



TITLE:

実験的関節結核の組織化学的研究

AUTHOR(S):

赤星, 義彦

CITATION:

赤星, 義彦. 実験的関節結核の組織化学的研究. 日本外科宝函 1958, 27(3): 755-777

ISSUE DATE:

1958-05-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/206631>

RIGHT:

実験的関節結核の組織化学的研究

京都大学医学部整形外科教室（指導 近藤鋭矢教授）

赤 星 義 彦

〔原稿受付 昭和33年3月7日〕

HISTOCHEMICAL STUDIES ON EXPERIMENTAL TUBERCULOSIS OF THE BONE AND JOINT

by

YOSHIHIKO AKAHOSHI

From the Orthopedic Division, Kyoto University Medical School

(Director: Prof. Dr. EISHI KONDO)

The author studied tissue reactions of bone and joint tuberculous foci in order to clarify how destruction and resorption of perifocal osteochondral tissue take place and also to investigate some of the dynamic mechanisms engaged in the natural healing process. And the role of alkaline phosphatase in osteochondral metabolism was also considered.

METHOD OF EXPERIMENT:

Young guinea pigs weighing 300-350g. were divided into the following two groups: 1) tuberculosis-free and 2) tuberculous.

To produce joint tuberculosis, 0.1 mg tubercle bacilli of the Frankfurt stock was inoculated into the right knee joint of all guinea pigs. They were investigated roentgenologically, histologically and also histochemically (Alkaline Phosphatase Reaction by TAKAMATSU-AKAHOSHI's method, PAS Reaction by Lillie et Greco's method, Metachromasia etc.) every week.

A SUMMARY OF THE RESULTS OBTAINED AS FOLLOWS:

1) Tuberculous granulations of the joint cavity invade the epiphyseal bone marrow through the attachment of the cruciate ligament or synovial membrane. Three or four weeks after inoculation, distinct secondary bone tuberculosis takes place and the adjacent bone marrow shows faint X-ray findings. At this stage, marked exudative changes are seen in tuberculous foci of the joint cavity and of other parts. Destruction and resorption of the surrounding bone trabeculae and metaphysis are most intense, and the alkaline phosphatase reaction is marked. As bone atrophy of this kind is greater in group (2) than in group (1), it may be that an allergic mechanism also plays a role in the decrease of local resistance. Differences in toxicity between various stocks of bacilli has considerable effect, too.

2) In the seventh to tenth week after inoculation, as the exudative mechanism decreases, proliferation of specific tubercular granulations increases, particularly in

the main focus. At this stage the destruction and resorption mechanisms of the bone become less marked, the alkaline phosphatase reaction also decreases and radiolucid bone atrophy is observed by X-ray. However, soon after when the encapsulating and localizing process of connective tissue cells starts, the adjacent bone trabeculae and metaphyseal bone cortex become more thickened by metaplasia of multiplying mesenchymal cells which contain abundant alkaline phosphatase. Therefore, at the latter stage marked sclerosis and thickening of the surrounding bones are seen by X-ray.

3) As for perifocal trabecular changes which depend much upon the nature of the focus, destruction and resorption of the neighboring bone trabeculae are most intense at the earlier stage where the multiplication of fibre-making cells appears in addition to the coexisting exudative and proliferative changes tuberculous granulation. When there are only proliferating changes, lacunar resorption is far less marked. In the hematogenous metastatic foci, there is very little destruction of bone trabeculae and the tendency to natural healing is marked.

4) As for joint cartilage, degeneration and destruction may be occur in many cases by compression of increased granulation inside the joint cavity. However, degeneration and necrosis of high degree are usually due to nutritional deficiencies of the matrix of joint cartilage which is destroyed by increased tuberculous granulation under it. In the course of time, such cartilage becomes detached from the bone marrow and gradually decrease or diminish metachromasia as well as alkaline phosphatase activities; however the PAS reaction increases markedly in some part of such cartilage. This cartilage reveals no regenerative ability; moreover, the completely necrotized part of it remains undissolved for a long time as a foreign body. But the neighboring joint cartilage which has its matrix intact has marked regenerative ability, high alkaline phosphatase activity as well as metachromasia at pH. 2.5. Therefore, at the latter stage, this cartilage multiplies markedly.

5) Alkaline phosphatase in tuberculous foci increases during the exudative stage, the early stage of ectopic calcium deposition and also at the period of multiplication of osteoblasts, fibroblasts etc., but the areas in which only specific tuberculous granulation such as epithelioid cell and giants cell exists do not show the reaction.

As for the metaphyseal bone cortex and the matrix of joint cartilage, the activity is most intense in the cells at the site where most active resorption or reconstruction of bone and cartilage occur.

Therefore, it is supposed that alkaline phosphatase is related to osteochondral metabolism in controlling the local balance of phosphoric acid and phosphoric ester. In addition, it may be considered to play an important role in the formation of the protein matrix of bone and also in the differentiation or multiplication of tissue cells.

目

次

第1章 緒言
第2章 実験方法

第1節 動物実験
第2節 観察方法

第3章 実験成績

第1節 レ線所見

第2節 健常モルモット膝関節におけるアルカリ、フォスファターゼ反応

第3節 未感染モルモット膝関節←結核菌接種群における組織学的並に組織化学

的所見 小括

第4節 既感染モルモット膝関節←結核菌接種群における組織学的並に組織化学的所見 小括

第4章 総括並に考按

第5章 結語

第1章 結 言

骨関節結核の病理解剖学的研究については、古来多くの報告が見られるが、病巣及び周囲骨軟骨組織の変化は甚だ複雑多岐に亘り、その形態学的変化がどのような経過を辿つて推移してゆくか、化学的变化との密接な関連性に於て究明せんとする試みは極めて少い。しかも組織反応の動的徴候、即ち形態と機能との結びつきに関する問題は現代病理学におけるもつとも重要な課題であり、組織細胞における各種酵素系の変動は形態学的変化に強い影響を与えるものとして注目されている。

特にアルカリ・フォスファターゼ（以下 Al-P-ase 又は P 反応と略す）は生体内に広く存在し、含水炭素、脂肪、類脂肪、鉍物質、核酸の代謝に関与し、有機基質を形成する場合の有力な因子となり、組織細胞の分化、新陳代謝に欠くべからざるものである事が判明して来た。骨軟骨組織に於ても該酵素は多量に存在し、代謝の激しい部位に於て特に増強する事実から、その生理的或は病的代謝に何らかの密接な関係を有する事は認識されているに拘らず組織化学的検索方法の困難さから、その作用については不明の点が多い。

著者は京大結核病理学部長高松英雄博士と共に、中性 EDTA 液 (Ethylen Diamin Tetra acetic Acid) を用いて骨組織を脱灰し、比較的大きな骨組織についても検索可能なアルカリ、フォスファターゼの組織化学的証明法を得るに至つたので、モルモットの実験的関節結核について、病巣並びに周囲骨軟骨組織中に多量に出現する Al-P-ase が如何なる消長をとるかを追求すると共に、メタクロマジー反応、PAS 反応その他の組織学的検索を併せ行つて、骨関節結核病巣及び周囲組織における組織反応の特異性及び骨軟骨の萎縮、壊死、破壊、吸収並びに自然修復過程における動的機転の一端を究明し、同時に骨軟骨代謝と Al-P-ase との関係について考究する目的で本実験を行つた。

第2章 実験方法

第1節 動物実験

1. 実験動物は 320g 前後の健常雄性モルモットを用い、2週間飼ひ馴らした後、人型 F 株結核菌（京都大学結核細菌学部所有のもの）の菌苔 1.0cc を滅菌生理的食塩水中に 1mg 含有する如く菌浮遊液を作り、此の菌浮遊液 0.1cc を右膝関節腔内に接種して原発性関節結核を惹起せしめた。

2. 実験群はツベルクリン反応陰性の未感染モルモット←結核菌注入群とあらかじめモルモットの腹壁皮下に F 株菌浮遊液 0.04mg を接種し 3 週後ツベルクリン反応陽転せる既感染モルモット←結核菌注入群とに頒つた。

第2節 観察方法

1. 菌接種後、一般状態、体重、局所々見を観察すると同時に、1, 2, 3, 5, 7, 10, 12, 15, 18, 20, 25 週に亘り両側膝関節レ線撮影を行つた後、各群 3 匹づゝ屠殺、左右共に膝関節を中心として上下約 1.5 釐の部で切断剔出し、死後変化を避けるため直ちに氷室内無水アルコール・アセトン等量混合液に浸漬固定し、5% 中性 EDTA 液で脱灰した標本について、H. E. 染色、Al-P-ase 染色を行い、必要に応じてコンドロイチン硫酸を目標とするメタクロマジー反応、PAS 反応、鍍銀染色、マロリー染色、ヴァンギーソン染色をも併せ行つた。

2. 骨、軟骨組織における Al-P-ase の組織化学的証明法（高松・赤星）

本編では染色法の要項を記載するがその詳細については、(1) Takamatsu H. & Y. Akahoshi: Acta Tuberculosis Japonica 6, 1, 11, 1956; (2) 高松・赤星：日本外科室函 26, 2, 301, 昭32. を参照されたい。

- 1) 固定：無水アルコール・純アセトン等量混合液（氷室内）固定液は 1 日 2～3 回交換し、固定期間中に膝関節両側面を漸次切除し 3～5mm の厚さとし更に 2～3 日固定する。
- 2) % EDTA 液（Tetrasodium salt と脱灰：5 Disodium salt 等量混合液 pH 7.0）
- 3) 約 1 時間流水々洗後、脱水、ツェロイジン包埋切片作製

- 4) 水洗(以下すべて蒸留水を用う)して1% $MgCl_2$ 液に数時間
- 5) 基質反応液
 1%βグリセロ磷酸ソーダ 20cc
 0.75%塩化カルシウム 20cc
 Palitz 硼酸緩衝液(pH 9.2) 10cc
 pH 9.1~9.3 以内にある様に毎回適宜修正を行う。
 37°C 10~15時間
- 6) 軽く水洗して5%硝酸銀 約7分
- 7) 水洗して37%中性フォルマリン液 7分, 液を捨て、静水中に20~30分
- 8) 再び水洗して0.01%塩化全液 1.5~2時間
- 9) 水洗, 5%チオ硫酸ソーダ液 1分
- 10) 流水々洗
- 11) 後染色: ケルンエヒトロート 約5分
- 12) 水洗, 脱水, カルボール・キシロール透徹
- 13) バルサム封入, 検鏡

Al-P-ase の存在部位は美しい紫色を呈し、細胞核その他は後染色により淡赤色に染色される。

第3章 実験成績

第1節 レ線所見

前後面及び側面撮影を行つて両側膝関節を比較検討した。即ちモルモットを腹位とし左手で軀幹骨盤を固定し、右手で両足関節を持ち充分牽引し屈曲拘縮を矯正して前後面撮影を行つた後屠殺、左右共に膝関節を中心とし上下約1.5 ㎝の部で切断剔出して側面撮影を行い、ルーペを用いて観察した。

第1群(未感染←結核菌)

結核菌接種後2週迄は認むべき変化はないが3週に到ると、前後面像で脛骨々端軟骨下に横径透明帯が出現し、側面像では大腿骨々端部に限局性の透明帯がみられる様になり、4~5週を経過すると、前後面像に於て罹患関節全体の骨梁が朦朧とした観を呈し来り、骨端線下部における限局性透明帯は増々明瞭化すると共に大腿骨々端核に於ても一部骨梁が消失し輪状の透明帯が出現して来る。

7~10週に於ては、脛骨々端線の骨萎縮は稍恢復して来るが大腿骨側では尚残存し、骨端核の骨梁は菲薄且つ鮮明となり一部は走向の配列が乱れて来るが全体として澄明な観を呈してくる。やがてその周囲に輪状の硬化した分割線があらわれてくる。側面像では骨梁の修復が一部にみられるが前後面程明瞭な分割線は認められない。

12~18週に於ては、骨変化がもつとも著明で人体にみられる様な陳旧性骨関節結核に基だ類似した所見を呈してくる。即ち全体として骨破壊、萎縮と骨硬化の両者が混在しており、関節面の一部は破壊されて不整となり、大腿骨、脛骨共に骨端核に限局性円形の空洞像がみられ、時としては数個存在する事もあり、大腿骨々窩間部に明瞭な腐骨分離を認めるものもある。此等の変化は前後面像で特に明瞭であり側面像には現われない変化も多い。又大腿骨々端線部に小円形空洞像を認めたものもあり、その周囲の稍不整な骨梁では朦朧とし硬化肥大しつゝある所見がみられ、前後面像では特に大腿骨々幹部における輪状分割線が明瞭となつて来る。又関節軟骨の一部における硬化像も明瞭にあらわれて来る。

20~25週に到つても骨端部における限局性骨空洞像は依然として残存しており、殊に前後面像で周囲骨硬化は増々著明となり、側面像では骨梁が整然となり且つその肥大修復が一部に認められる。膝蓋骨関節面は萎縮が認められ、一部に関節間隙の狭小化及び癒着像のみられるものもあつたが膝蓋骨の一部に著明な硬化像を呈するものも認められた。関節軟骨は健側に比し硬化著明で、骨端部における骨梁も肥大硬化して来るものが多いが、その配列は必ずしも整然としておらず横走、斜走、蛇行し不規則な発達を示すものも比較的多い。25週以後は空洞壁の硬化は次第に増強されるが病巣全体の骨組織による置換は起り難い。40週に於ては健側に比し骨端部、関節軟骨の異常硬化が著明である。

第2群(既感染←結核菌)

菌接種後1~2週に於て、既に骨端線下部横径透明帯の出現をみ、3~5週に到ると前後面で全例に大腿骨々端核及び骨幹端部骨梁が朦朧となり、骨端線の不明瞭化、骨端核の限局性透明帯がみられる様になる。次いでその部分における骨梁の配列は稍不整且つ繊細となり全体として澄明な観を呈して来る。

7週に到ると前後面像で大腿骨々窩部に骨破壊がみられ、円形透明な空洞像が出現し同時に分割の傾向もあらわれて来るが、側面像では此等の変化は捕え難い。

10週を経過すると、一部関節軟骨の硬化、骨端線部透明帯周囲における骨梁の肥大硬化があらわれて来る。

12~17週に於ては、大腿骨々窩部における骨破壊著しく、中には腐骨の存在を認めるものもあるが分割硬

化の傾向も著明で、脛骨関節軟骨面及び骨端線部の硬化も明瞭となり、大腿骨々幹部における輪状硬化像も高度である。

20～25週に於ては、前後画像で骨端核部殊に大腿骨々窩部を中心とする限局性空洞像は依然として存在し、その数も減少する傾向は認められないが、その周囲骨梁における硬化肥大はその程度を増し、関節軟骨も健側と比較して肥厚硬化の著明なものが多い。

小 括

未感染群に於ては、菌接種後3～5週目より、既感染群に於ては1～2週目より先ず前後画像に於て、骨端軟骨下に横径透明帯が出現し、次いで骨端部にも限局性透明帯があらわれて来るが、これに相前後して大腿骨、脛骨共に骨梁が稍不鮮明となり骨髓全体が朦朧とした観を呈する。

此の様な骨変化が既感染群により早く出現し、未感染群に於てはツベルクリン反応が陽転する3～5週にもつとも著明に認められる事は、結核菌に対する局所アレルギー反応に依り病巣周囲骨組織におけるカルシウム代謝が一過性に亢進されたものと解釈されるが、殊に骨髓の朦朧像は主病巣における滲出機転と関係があると推察される。更に2～3週を経過すると骨髓全体が澄明な観を呈する様になり、骨梁は繊細明瞭となつて来るが此の時期は後述の如く滲出機転が消退し、結核特有の肉芽繁殖の時期に相当し、主病巣が鎮静期に移行する時期である。上述の所見は臨床例に於て陳旧性骨関節結核の主病巣周囲における澄明な骨萎縮像或は主病巣再燃時の朦朧とした骨変化に類似しているが、この両者は骨萎縮と云う概念からすれば2つの相異つた相を示していると考えられ、結核病巣の活動性乃至病巣周囲骨組織の反応性、個体の Disposition に関連してみられる変化であり、その時期的推移を推測し得るものではないかと思われる。

澄明像と相前後して関節軟骨面の一部に骨破壊があらわれ、骨窩部における著明な骨破壊、空洞像がみられるが、菌接種後10週頃より全体的な骨萎縮は回復の傾向を示し骨梁も次第に肥厚し来り、骨破壊像の周囲に硬化像が認められる様になる。12～15～20週に於ては腐骨のみられるもの、比較的高度の骨破壊、空洞像を呈するものが多いが、周囲の反応性硬化も週を追うに従つて著明となり、人体における陳旧性骨関節結核と甚だ類似した所見を示しつゝ自然治癒に向うが、25～40週でもレ線学的には完全な修復はみられない。

上述の諸変化は側面像より前後画像の方により明瞭

にあらわれるが、10週以後のいわゆる陳旧期に入ると未感染、既感染群の間には有意の差はみられず殆んど同様の変化を示しつゝ経過する。

第2節 健康モルモット膝関節における Al-P-ase 反応

骨、軟骨組織に於ては、部位、細胞の種類、細胞の生活条件に従つて反応も種々の変化を示すので、反応の程度を次の如く判別記載する。

i) 強陽性：原形質全体が多数の紫色顆粒で埋められているもの、甚しい場合は核も判別出来ない程細胞全体が染つているもの。

ii) (中等度) 陽性：稍多数の紫色顆粒が原形質全体に散布するもの、顆粒はやゝ粗大に見える。

iii) 弱陽性：原形質内に少数の紫色顆粒が散在又は偏在しているもの。

iv) 痕跡程度：原形質の一部に淡い紫色顆粒が点在し染つているもの。

v) 陰性

成長期健康モルモットの膝関節に於ては、関節腔内十字靱帯は Al-P-ase 反応陰性であるが、その附着部のみ痕跡程度が弱陽性に証明される。メニスクスは膠原軟骨陰性であるが骨核部は陽性部分が多い。脂肪組織は陰性、滑液膜細胞には弱陽性、痕跡程度、陰性の種々の細胞がみられ、陽性のものでも比較的淡く染つている。毛細血管壁は痕跡程度か弱陽性であるが小動脈の内膜細胞は陽性を示す。

関節軟骨表面は陰性であるが、その下部にある細胞層は痕跡程度から中等度陽性へと深層にゆくに従つて増強し、軟骨基礎板では肥大層、泡状層が強陽性を呈する。

骨端部に於ては十字靱帯附着部強陽性、骨梁の骨細胞は表層部では弱陽性、深層では痕跡程度乃至陰性、骨梁周囲造骨細胞は陽性乃至強陽性である。骨髓内細胞は陰性のものから中等度陽性に到る種々の程度の反応を示すが、細胞の種類に依つてその陽性度も異なる。

骨端軟骨に於ては、静止層は陰性であるが柱状層で軟骨細胞が卵円形に変化してゆく部分より痕跡程度乃至弱陽性となり、増殖層、成熟層にかけて中等度陽性から強陽性となる。泡状化すると陰性化するが、石灰が沈着し更に造骨細胞による骨造成が行われ原始骨梁の形成されつゝある部分では強陽性を示す。

骨幹端部及び骨幹部における骨皮質細胞は一部陽性を示すが、骨幹部では反応陰性の古い骨細胞が多い。ハーベル氏管内壁は強陽性を示す。骨膜最外層及

び筋層は全く陰性であるが、骨膜細胞は内層にゆくに從つて陽性度は高まり、内骨膜も強陽性を呈する。

第3節 未感染モルモットー結核菌接種群における組織学的及び組織化学的所見

1. 結核菌接種後2～3日で関節腔内滲出細胞が出現し、1週では関節軟部組織の滲出機転が著明に認められる。即ち滑液膜表面に多核白血球の滲透性浸潤がみられ、滑液膜被覆細胞は腫脹肥大し一部では崩壊、剝離しつゝある細胞群も認められる。又滑液膜には小単球も多数出現し、屈側滑液膜及び脂肪体部の血管拡張も認められる。十字靱帯附着部には大単球、変性多核白血球浸潤著明で、この部分より骨端核内へ既に大単球が侵入しつゝある所見もみられる。関節軟骨表面には崩壊した滲出細胞の苔が附着しているが、軟骨細胞自体の変性は認められない。又関節軟骨基礎板の一部に褐色のクロマチンに染つた部分がみられる。骨端軟骨、骨幹部には健側に比し認むべき変化はないが、骨幹端部の骨小管は稍拡大し一部に破骨細胞の増加がみられる。

フ反応：菌接種後2～3日に於ては関節腔内フ反応は著明でないが、1週を経過すると崩壊、剝離しつゝある滑液膜内被細胞、関節腔内の多核白血球を主とする滲出細胞にフ反応は著しく増強し、殊に十字靱帯附着部は強陽性を示す。滑液膜細胞の一部も陽性度を増し、拡張した血管内膜細胞は陽性であるが中、外膜細胞は陰性である。

関節軟骨表層は陰性であるが附着した苔は一部強陽性を呈している。骨端部骨髓内細胞は陰性のものから陽性を示すもの迄種々の程度の反応を示すが、その状態は正常と変らない。骨端軟骨におけるフ反応出現部位は正常と略同様であるが、静止層の一部にも陽性を示す細胞が出現し、泡状層では減弱の傾向がうかがわれる。骨幹部では骨小管内壁は陽性乃至強陽性を示し、骨膜周囲の多核白血球浸潤巣では骨膜細胞と共に陽性度が極めて強い。

2. 2週に到ると、滲出性機転は増々強くなり、大腿骨前方骨膜より膝蓋骨下腔にかけて滑液膜浸潤は著しく増強し、特に小単球の早期浸潤が著しいが、これは関節腔内結核初期像の特徴と考えられる。関節後方滑液膜、脂肪体では、その半数が多核白血球及び大小単球で、その中に若干の組織球様細胞も散見される。脛骨前面滑液膜に著しい充血及び出血巣の認められたものがあり、近接した関節軟骨細胞は萎縮変性し、その部では特に多核白血球、小単球の集簇が多数認めら

れた。十字靱帯附着部には細胞浸潤による破壊がみられ、近接骨髄では細胞数減少し所謂実質消失帯、浮腫、フィブリン析出等が認められる。骨端軟骨には未だ著明な変化はみられないが、骨幹端部骨皮質では、骨小管は拡張し、紡錘形の骨膜細胞がその内腔に深く侵入増殖し、破骨細胞による Lacunäre Resorption がみられ、骨端部及び原始骨梁周囲の骨髄内に骨髄巨細胞が多数出現する。

フ反応：滑液膜及び関節腔内の滲出細胞中多核白血球の比率が増加して来るのと併行してフ反応は増強する。大単球は痕跡程度から中等度陽性、小単球、組織球様細胞は陰性である。十字靱帯は陰性であるが附着部では種々のフ反応を示す滲潤細胞が混交しており、近接した骨端骨髄細胞は正常と比較してフ反応陰性の比率が多く、実質消失帯の生ずる前にフ反応陽性細胞が先ず消失してゆく所見がみられる。又骨梁周囲にはフ反応陽性の紡錘形細胞は少く円形化の傾向がみられた。骨端軟骨では泡状層の反応減弱がみられるが、骨幹端部では骨小管のフ反応は著明に増強し、内外骨膜共に強陽性を呈している。

3. 3～4週を経過すると滲出性変化は増々高度となり、一部には Necrobiosis が出現し、その周囲に類上皮細胞、線維形成細胞もあらわれ漸く結核性炎症としての特異性が認められる様になる。又十字靱帯及び滑液膜附着部には依然として多核白血球、大単球が多くみられるが大単球中核が淡染し原形質の多い前類上皮細胞と考えられる様な形態を示す細胞もあらわれて来る。十字靱帯附着部の骨欠損部及び滑液膜附着部から此の様な肉芽が侵入すると、肉芽に近接した骨梁は恰も融解 Einschmerzen するかの如き萎縮像が見られるが、破骨細胞は殆んど認められず骨破壊は著明ではない。骨髄内細胞はその数を減じ一部にフィブリンの析出、浮腫が認められる。骨端軟骨部では増殖層、泡状層の萎縮がみられ、殊に脛骨側では原始骨梁の殆んど欠除しているものもみられた。骨幹端部では特に大腿骨外骨膜が著しく肥厚し、拡大した骨小管に紡錘形の骨膜細胞が異常に増殖して骨皮質は所謂 Lacunäre Resorption により高度に破壊吸収されている。又周囲骨髄部には転移巣が出現し、骨梁周辺には多くの骨髄巨細胞のみられるものもある。

フ反応：関節軟部組織におけるフ反応は2週と略同程度であるが Necrobiosis の部分では強陽性、その周囲の浮腫状を呈する部分、類上皮細胞、小単球は全く陰性、前類上皮細胞、若干の線維形成細胞は弱陽性

を示す。破壊されつゝある関節軟骨細胞は全く陰性化し、軟骨下に肉芽が侵入してくると正常では強陽性を示す軟骨基礎板も漸次陰性化し、メタクロマジー反応も pH 2.5 及び 4.1 に於て減弱の傾向を示してくる。大腿骨々幹端部では肥厚増殖した骨膜細胞層及び骨小管内腔は強陽性を示し、健側と比較して此の部におけるフ反応は著しく増強している。

4. 5週に到ると、関節軟部組織に典型的な結核結節 *Tuberkel* の形態がみられる様になる。滑液膜も著明に肥厚し、結節の一部に乾酪化のみられるものもあり、ラングハンス氏巨細胞も出現する。関節腔内が肉芽で充満しているものでは膝蓋骨軟骨面及び大腿骨関節軟骨が圧迫壊死に陥り、数ヵ所で関節軟骨の破壊をみたものがあつた。マロリー染色では此の部分の軟骨は青色調を減じ赤褐色調を帯びてくる。骨端骨髄内肉芽の侵入は稍増強し、鍍銀線維、マロリー青染部も増加してくるが、繁殖性及び増殖性肉芽が混合して旺盛に發育する此の時期に於て骨梁の *Lacunäre Resorption* はもつとも高度であり、病巣周辺の骨梁も走行が全く不整で骨幹端部における骨皮質の萎縮、破壊も甚だ高度である。

フ反応：関節腔内に充満した肉芽中の結核結節では、中心部の多核白血球崩壊産物は既にフ反応陰性を示すものが多く、PAS 反応は強陽性であり、周囲にみられる一部の大小単球及び類上皮細胞集簇は陰性である。圧迫壊死に陥つた関節軟骨は pH 2.5, 4.1 におけるメタクロマジー反応は減弱し、フ反応も消失乃至減弱が認められる。骨端軟骨では成熟層、泡状層に陽性乃至強陽性であるが増殖層で著しい減弱をみたものがあつた。骨幹端部は3~4週と略同様の所見がみられる。

5. 7~10週に到ると、関節腔内肉芽組織の増殖著しく殆んど関節腔全体を覆い、*Meniscus* も破壊され軟骨細胞の変性、染色性の減弱が認められる。滑液膜内の大きい結核結節では中心部は *Necrose* に陥り、その周囲に於ては類上皮細胞がもつとも多く次いで線維形成細胞が多くみられ、多核白血球は極めて少い。此の時期に於ては、関節腔内肉芽は一般に結合繊細胞による結節の被包化が微弱で殊に滑液膜に於ては浸潤性或は繁殖性に病巣が拡大してゆく傾向が見られるが十字靱帯附着部及び前方滑液膜附着部から骨端骨髄内に侵入した肉芽は増殖性変化が強くと、鍍銀線維、マロリー青染線維細胞も多い。膝蓋骨の一部に於て大腿骨関節軟骨との癒着もみられるが同部には多核白血球の

集団を認めた。尚転移巣は膝蓋骨にも現われるが周囲骨梁の反応性肥厚を示すものもみられる。又10週に於て大腿骨々幹核の大部分を占める如き大きな膿瘍を形成しているものもみられたが、その中心部は二次的乾酪化を示し壊死崩壊した多核白血球集団を取囲み類上皮細胞のみの繁殖巣があり骨髄内細胞は殆んどみられず病巣に直接した骨梁は著しく萎縮し菲薄となつてゐる。又骨端軟骨を貫通して骨幹端部骨梁に迄及ぶ肉芽侵入のみられたものもあつたが、一般に軟骨細胞の配列は著しく乱れ、成熟層及び泡状層軟骨細胞の変形が認められ化骨障害を来している所見がみられた。尚骨幹端部骨梁は刈りとられた様になり骨髄中には転移巣、フィブリンの析出がみられる。骨幹部骨髄内には転移巣多数みとめられ外骨膜は中等度に肥厚している。即ち此の時期に於ては関節腔及び軟部組織は鎮静期に入りつゝあるが、骨端部、骨端軟骨、骨幹部骨髄の変化は比較的進行性であり、転移巣が極めて多い。

フ反応：関節腔及び軟部組織中における結節は類上皮細胞集団にかこまれ、その部におけるフ反応は陰性であるが *Necrobiosis* の部分における多核白血球は陽性乃至強陽性を示すものもあり、大単球も弱陽性乃至陽性、滑液膜細胞自体のフ反応は減弱し陽性乃至痕跡程度のものが多い。又 *Necrose* 中心部に石灰化巣がみられるがフ反応、メタクロマジー反応は全く陰性その周囲は PAS 反応が強い。関節軟骨は陰性、結核性肉芽との接触面の小単球集団は陰性である、変性軟骨細胞はフ反応全く陰性化し基礎板に於ても著しく減弱しメタクロマジー反応も弱い。骨端部にみられる肉芽の中心部は *Necrose* に陥り弱陽性乃至陰性であるが *Necrobiosis* の部分は比較的長期間陽性を示している。周囲の類上皮細胞は陰性、病巣に接した骨梁の反対側では強陽性細胞も多くみられる。骨端軟骨の配列の乱れている部分では静止層全く陰性、柱状層は減弱し間質の PAS 反応が強い。骨幹端部では内外骨膜強陽性、破骨細胞は弱陽性のものが多く時に強陽性のものもみられる。転移巣周囲はフ反応極めて弱くフィブリンは全く陰性を示す。

6. 12~15~17週に於ては、関節腔全体が結核性肉芽で充満しており、大小円形細胞、類上皮細胞、巨細胞、線維形成細胞、線維細胞が混交し陳旧性結核の病像を呈しており鎮静期の所見を示すものが多い。十字靱帯は破壊されているものが多く線維細胞がその大部分を占めその中に結節集団が散在している。関節軟骨は肉芽により圧迫され萎縮している部分があるが他方

軟骨性化骨により骨化して来る像もみられる様になる。十字靱帯附着部における肉芽侵入部位では殆んど全例に於て骨の広範な破壊がみられ、その部における肉芽は依然として繁殖性変化がみられるが増殖性傾向も強く両者が混交している。骨端部に於ては限局性結核性肉芽及び脂肪髄をみるが肉芽の周囲を取囲む様にして骨梁の新生がみられ、一方関節軟骨基礎板からも新生骨梁が発生し一部に於ては著明な軟骨島の骨髄内増殖もみられた。骨端軟骨部に於ては配列の正常化と共に各軟骨細胞層の細胞数も増加し、骨梁新生も殆んど全例にみられる様になるが一部では尚部分的萎縮像の存在をみとめた。骨幹端部骨皮質に於ては、12週では外骨膜から幼若造骨細胞が盛んに増殖し、反面窩状吸収もみられるが15~17週では骨皮質はその厚さを増し骨小管も正常化し、外骨膜は肥厚して細胞も扁平化し窩状吸収像も極めて少い。

フ反応：関節内肉芽組織のフ反応は細胞固有のフ反応を示しつゝ、固定し、動的なフ反応の変化は少く急性期に比し全般的に著しい減弱がみられる様になる。即ち陰性を示す類上皮細胞、小単球、線維細胞の比率が増し、大単球、線維形成細胞に弱陽性乃至中等度陽性にみられるのみである。関節軟骨では軟骨基礎板から骨梁が新生されつゝある部分ではフ反応著しく増強し、増殖軟骨細胞のメタクロマジー反応は明かに増強している。骨梁の新生をみない部分即ち軟骨下に肉芽が充満している部分では軟骨細胞自体のフ反応、メタクロマジー反応何れも減弱している。骨端骨髄では十字靱帯附着部から限局病巣にかけて一般に陰性及び痕跡程度の細胞が多く、いわゆる骨髄内細胞も陰性となり脂肪細胞は全く陰性であるが、増殖しつゝある骨梁周辺の骨髄内細胞は陽性のものが漸次多くなり、骨梁周囲に血管像及びフ反応強陽性を示す稍紡錘形の細胞がみられる様になる。骨端軟骨部では増殖層、成熟層、泡状層上部のフ反応増強し恰も新生骨梁増加機転が高まっていると思われる所見が認められるが一部では尚減少している部分もみられ不均衡な骨増殖像を示す。骨幹端部では肥厚した骨皮質内の骨小管内腔フ反応は正常化し且つその走行も骨皮質と併行になり、外骨膜細胞も強陽性のものから扁平化してくるとフ反応は減弱してくる。又肥厚した骨幹部骨皮質の近くで新生されつゝある骨梁周囲には紡錘形細胞は陽性乃至強陽性を示しているが周辺の骨髄内細胞にはフ反応の増強は認められない。

7. 20~25週に到ると、関節腔は尚肉芽組織が充満

しているが線維細胞、線維形成細胞の比率が多くなり、類上皮細胞は時に集簇巣を形成しているがその数は減少し、その中に銀線維の侵入が認められる。巨細胞は依然として増殖性細胞内に遺残している。関節軟骨の破壊進行所見は全くみられずむしろ正常化の傾向のみられるものもあるが一部は肉芽に置換されている。尚健全関節軟骨からの軟骨増殖、骨梁形成は全例にみとめられる。骨端部に於ては増殖性肉芽の外側部に於て線維形成細胞の直接化成による骨梁添加と思われる所見がみられ且つ又肥厚肥大した関節軟骨の基礎板から骨端骨髄中に軟骨岬状に突出した類軟骨組織、骨梁形成がみられる。しかし他面一部骨髄中には尚結核結節の遺残がみられる。骨端軟骨では各細胞層における細胞数の減少、配列の乱れをみるものもあり静止層の萎縮もみられる。此の様な変化は大腿骨側に著明で一部のものでは骨梁形成が著しく障害されているが病変の比較的少い脛骨側ではむしろ骨梁形成の増進しているものも多くみられ動物の個体差、病変の拡がりによる差が著しい。骨幹端部では尚結核性肉芽の遺残している部分で化骨障害のみみられるものもある。転移巣周囲では浮腫及び骨梁の萎縮がみられたがその程度は極めて弱い。25週では骨皮質は肥厚しているが骨小管は減少し石灰代謝の鎮静化を思わしめるが、大腿骨側で骨端軟骨の一部を貫通して骨幹部に及ぶ肉芽侵入のみとめられたものもあつた。

フ反応：関節腔及び軟骨組織に於ては、フ反応陽性の線維形成細胞、痕跡程度乃至弱陽性を示す大単球、線維細胞が多く繁殖性よりもむしろ増殖性変化の方が強い所見が明瞭である。特に骨梁周辺の紡錘形細胞のフ反応は強陽性を示すが周囲にも同形細胞が多数みられる事より幼若な線維形成細胞の直接化生による骨梁の添加と考えられる。尚古い結合組織細胞及び骨端侵入部の骨に直接しない部分の線維細胞のフ反応は極めて微弱であり、この部分にみられる血管では内膜のみ陽性、外膜は陰性である。25週に於て著しく肥厚肥大している関節軟骨はメタクロマジー反応陽性でフ反応は軟骨岬は陽性、基礎板は強陽性を示している。骨端の一部に転移巣を認めるものがあつたが類上皮細胞、フィブリンはフ反応全く陰性である。又病巣より離れた部分で骨梁増殖のみみられる部分では骨髄内細胞も増加しフ反応も陽性を示すものが多く、一部に骨髄機能の正常化が窺われるが脂肪髄も相当数みられる。骨端軟骨におけるフ反応は略正常であるが細胞数の減少がみられ骨梁の新生も比較的少いがこれは年令的な条件も

考慮するべきであろう。骨幹端部、骨幹部骨皮質における骨小管腔のフ反応は減弱し、内外骨膜細胞に於ても陽性度は減少し鎮静化が窺われる。

8. 30~40週を経過すると肉芽中における結合組織の増殖は甚だ著明となり、鍍銀染色で黒褐色線維が到る処にみられるが尚リンパ球、大単球、組織球も残存し、その中に類上皮細胞、巨細胞も遺残している。十字靱帯の結合組織化は特に著明で一部は癰痕様となつてゐるものが多い。関節軟骨は不規則な増殖を示し部分的肥厚増殖がみられる。骨端骨髄内肉芽の線維化も著明で結核性変化は殆んどみられない迄に到つてゐるものも多く一部癰痕化しているものもみられるが、骨端及び骨幹骨髄内到的処に類上皮細胞を中心とする転移巣のみられるものもあつた。然し一部転移巣では典型的な結節を示さず周囲より骨髄細胞が混入し鍍銀線維の増殖による自然治癒所見がみられた。骨端軟骨は殆んど全例配列が不規則となり成熟型、泡状層の幅員減少し新生骨梁も極めて少い又一部では軟骨を貫いて肉芽が侵入しているものもみられた。骨幹端部骨皮質は部分的に肥厚しているもの、異常に増殖した結合組織細胞が癰痕化しているもの等あり何れにしても増殖性変化が著しい。又健側大腿及び脛骨々端部にもヘマトキシリン染色の転移巣が認められるが骨端軟骨、関節軟骨等は全く正常配列をなし罹患側に比しその幅員も大であるが、転移巣に近接した骨梁には僅かながら平滑吸収像もみられる。

フ反応：関節腔内肉芽は全体として減少し、全般的にフ反応は著しく減少し、絨毛形成部のフ反応も弱い。又フ反応陰性の小単球、大単球、類上皮細胞がフ反応全く陰性となり癰痕化した結合組織中に遺残している。骨端骨髄の肉芽ではフ反応陽性の線維細胞がみられ、新生血管も陽性を示し、非特異化の傾向が強い。関節軟骨は部分的肥厚増殖した部分でメタクロマジー反応、フ反応はかなり強いが、健側と比較して著しい差はみられない。骨端軟骨、骨幹端部では部分的フ反応減弱がみとめられ健側と比較すればその不平均が著しい。

小 括

1. 関節腔及び軟部組織に於ける組織学的所見及びフ反応の増減から病期を概括して凡そ別表の如く分けられる。

1) 滲出期（漿膜性炎症像）

1~3週 滲出性(++) 類壊死(+)

3~5週 滲出性(++) 繁殖性(++) 壊死(+)

2) 繁殖期（結核性肉芽の繁殖）

5~7週 繁殖性(++) 滲出性(++) 増殖性(++)

7~10週 繁殖性(++) 増殖性(++) 滲出性(+)

3) 増殖期（陳旧期、非特異性肉芽の増殖）

10~12週 増殖性(++) 繁殖性(++)

12~18週 増殖性(++) 繁殖性(+)

4) 回復期

18~25週 増殖性(++) 繁殖性(+)

癰痕化(+) 絨毛形成(+)

即ち、菌接種後1~3週は滲出性炎症像が極めて強く、腫張増殖した滑液膜内被細胞及び関節腔内に線維素と共に滲出した多核白血球、大単球のフ反応は強陽性を呈し、菌侵入に対する局所反応の烈しさが窺われる。又初期リンパ球滲出も他臓器結核に比し著しく多い。次いで多核白血球集団を中心に Necrobiosis があらわれる2~3週頃より大単球の一部が核の淡染、細胞の変形を示し類上皮細胞が多数出現し繁殖病巣を形成してくる。滲出性機転は5週を頂点として以後稍減弱の徴候を示して来るが此の時期のフ反応は依然として強い。

5~10週は結核性肉芽の繁殖が旺盛で、類上皮細胞を主体とする結核結節が諸々に集簇巣を形成し、関節腔内に肉芽が充満してくるが一方二次的乾酪化、膿瘍形成も強く、5~7週では繁殖性肉芽とこの様な滲出性変化及び壊死変性が混交している。7~10週では類上皮細胞、巨細胞の繁殖はますます強くこれと併行して線維形成細胞の増殖も強くなる。フ反応は陰性を示す繁殖病巣、リンパ球集団と、陽性を示す諸細胞との間に明瞭な区別がみられ全般的には滲出期に比して減弱の傾向がみられる。

10~18週にかけては線維形成細胞、線維細胞の増殖機転が強く、その初期にはフ反応も増強するが陳旧性病像を呈してくるにつれてフ反応稍固定し滲出期の如く強い反応はみられない。

18週以後は結合組織細胞は次第に萎縮し血管増生も少くなり一部には癰痕化がみられる。結核性肉芽も吸収整理され部分的に被包化がみられ、全般的には非特異化の傾向が強く、滑液膜の絨毛形成もあらわれてくる。以上は大体のシェーマを示したものであるが10週以後は実験動物の個体差がはげしく増殖性及び繁殖性病巣が種々の割合に混交しており、一方滲出性病変の二次的変化による乾酪化、石灰化の遺残も比較的長期にみられるものが多く、いわゆる陳旧性病像を呈しつつ30~40週に到るものもある。

2. 関節軟骨及び骨端部に於ては、菌接種後2週頃より十字靱帯附着部の骨欠損部及び前方滑液膜附着部より多核白血球、大小単球を主とする浸潤巣は強いフ反応を示しつゝ、骨端骨髓内へ侵入してゆくが、それと同時に近接骨端骨髓内細胞のフ反応の減弱と細胞数の減少がみられ、いわゆる実質消失帯の像を呈する。骨端骨髓に侵入した肉芽は時には著明な滲出壊死巣を形成する事もあるが、多くは3~4週頃より大単球の核が淡くなり前類上皮細胞、類上皮細胞の繁殖がおこり、線維形成細胞が出現してくる。この様な肉芽組織に接した骨梁は窩状吸収がみられるが、5~7週即ち繁殖性変化に増殖性変化が混交し、しかも或程度の滲出性変化を伴う時期に於て破骨現象はもつとも旺盛である。一方類上皮細胞集団のみで増殖性変化の殆んどみられない部位及び転移巣では破骨現象は極めて少く、周辺骨梁の一部はあたかも融解する様な *glatte Resorption* がみられるがその程度は甚だ微弱である。

又5~10週では骨端骨髓内にしばしば出血巣がみられ血管増生も結合組織細胞の増殖と併行してみられ骨梁破壊と他方その周辺部では骨梁添加、増殖像もみられる。12~18週では更に増殖性変化が強くなる。20~25週に至つて結合組織細胞が萎縮しはじめるとフ反応は減弱し、癒着化部では全く陰性化する。

関節軟骨表面では1~2週よりフ反応強陽性の多核白血球及びその崩壊産物が附着している部分では軟骨細胞にその拡散がみられるが、5~10週で関節腔内に肉芽が充満してくると肉芽の圧迫により一部軟骨細胞は比較的深層迄フ反応減弱し、次いで軟骨細胞の変性と併行してメタクロマジー反応、PAS 反応も一時減弱する。又骨端部肉芽により関節軟骨基礎板が破壊されてくると軟骨全体のフ反応は著明に減弱乃至消失しメタクロマジー反応も減弱の傾向を示すが、軟骨部が完全に遊離し壊死に陥ると PAS 反応の濃染がみられるに到る。7~12週頃より骨端骨髓内の鎮静化した肉芽の周囲に関節軟骨細胞が岬状の異常増殖を示すものがあり、20~25週では著しく増殖した軟骨細胞のフ反応増強に併行して軟骨性化骨による骨端部骨梁の増生が殆んど全例に認められる様になる。

骨端軟骨の変化は個体差が著しく近接した骨端骨髓内病変の拡がりに左右されるが、全般的にみると2~3週頃より増殖層、泡状層の反応減弱し3~5~7週では原始骨梁の一部にフ反応の減弱乃至消失が認められるもの多く、明かに部分的骨萎縮所見を呈するもの

も多い。又軟骨細胞の配列の乱れはフ反応とは直接的な併行関係は認められないが、各層細胞数の不同不平均とフ反応の間には明かに関連性がみられた。骨端軟骨のフ反応からみると結核菌の関節内接種による循環障害の他に近接病変の有無も骨萎縮に大きな意味を有すると考えられる。

3. 骨幹端部及び骨幹部に於ては、菌接種後1週より外骨膜内層細胞の増殖と共にフ反応は増強する。2~3週に到ると骨小管が著明に拡大し、その内腔にはフ反応強陽性の未分化骨膜内層細胞が全く不規則な配列を示しつゝ、徐々に骨皮質内へ侵入してゆくがその内腔壁では窩状吸収が極めて盛んである。5~7週に到ると破骨細胞も多数混合してくるが、この時期に於ては骨皮質は既に菲薄となり健側と比較してその差が著しい。10~12週に於ても依然として破骨細胞はみられるがその数は稍減少し骨小管内腔骨膜細胞も扁平化がみられ窩状吸収の鎮静化が窺われフ反応も全般的には減弱して来る。12~18週に到ると拡大した骨小管の数を減じ内腔の骨膜細胞の配列も正常化してくる。即ち骨吸収の盛んな時期は骨小管は恰も骨皮質内に直角、鋭角の走行を示すものが多いが、恢復期に入ると骨皮質及び外骨膜層と併行になる傾向がみられ、その初期に於ては再び骨膜細胞は増殖しフ反応も増強し同時に骨皮質の添加肥厚がみられるに到る。この様な骨吸収、骨添加の現象は関節腔内病変及び骨髄内病変の性状と併行することから結核病巣の滲出性乃至繁殖増殖機転が周囲骨組織の反応に直接的に影響するものと考えられる。且つ又その変化が比較的広範囲に及び防禦機転としての骨軟骨細胞自体の修復現象が著しく強い事は他の臓器結核の場合と著しく異なるところであり骨関節結核における組織反応の特異性と云えよう。20~25週では骨小管はその数も減じ内腔も極めて狭少となり骨皮質は一般に健側よりも肥厚しており肥厚の著明でないものでも外骨膜細胞層は健側と比較して著しく厚くなっている。

又骨端部、骨幹端部、膝蓋骨内に3~4週頃より血行性乃至リンパ行性と考えられる転移巣がしばしばみられるが結合組織細胞の増殖は伴わず周囲骨梁の破壊も極めて少く自然消失、吸収されるものが多い。

第4節 既感染モデルモットー結核菌接種群における組織学的及び組織化学的所見

1. 結核菌注入後2乃至3日に於て関節腔内には既に著明な滲出機転がおこり、1週を経過すると関節全体にわたり滲出性変化、滑液膜被覆細胞の膨化肥大が

みられるが、滲出細胞の大部分は多核白血球よりなり特に十字靱帯附着部大腿側に浸潤が強く、関節後方に於ては既に化膿状となり膿瘍を形成しているものも認められる。関節軟骨の表面には滲出細胞及び変性産物の苔が附着しているが軟骨細胞自体の変性及び滲出細胞の骨端骨髓への侵入はみられない。骨端骨髓中には浮腫がみられフィブリン析出、細網線維の認められるものがある。骨端軟骨は整然たる配列を示し骨梁の走向も正常であるが健側に比し骨梁の長さが短縮しその間に破骨細胞の増加が著明で既に骨萎縮が始まっている所見がみられる。又骨幹端部に於ても骨膜は著明に肥厚し特に比較的幼若な紡錘形の骨膜細胞が拡大した骨小管内腔に侵入し骨皮質全体に窩状吸収像が認められる。骨幹部に於ては未だ特別の変化は認められない。

フ反応：関節腔全体に亘つて多核白血球の浸潤著明なためフ反応強陽性を示し、化膿状となつている部分も尚強陽性を呈している。関節軟骨自体は略正常、骨端部に於ては浮腫を呈している部分では全く陰性、骨髓内細胞もその周囲では陰性化しているものも多いが、その他の部分では弱陽性乃至中等度陽性、破骨細胞も弱陽性乃至中等度陽性を示す。骨端軟骨に於ては静止層、増殖層は略正常であるが泡状層は著明なフ反応の減弱を示し原始骨梁周囲のフ反応も全般的に減少しているに拘らず部分的増強もみられる。破骨細胞は中等度乃至強陽性を示す。骨幹端部に於てはフ反応増強し恰もフ反応強陽性の紡錘形骨膜細胞が集合して破骨細胞となり骨皮質中に侵入破壊してゆくが如き所見も認められた。

2. 2週を経過すると関節腔全体が腫張肥大した滑液膜と肉芽組織で充満し、既に結核性肉芽としての特徴を示し典型的な結核結節も発現してくる。滲出細胞も1週に比し多核白血球は稍減少すると共に大単球、小単球の数の比率が増し類上皮細胞、ラングハンス氏巨細胞、線維形成細胞もみられる。脂肪体にも肉芽が侵入しその中に結核結節が認められ血管も拡張充血している。又十字靱帯附着部及び滑液膜附着部の一部から骨端骨髓中へ肉芽が侵入がみられる。関節軟骨の一部には恰も関節腔内肉芽に押しつぶされ圧迫壊死に陥つたと思われる部分が認められ、その部より多核白血球集団を中心とした結核性肉芽が骨端骨髓内へ侵入せんとしつゝある所見を示すものもみられた。骨端軟骨は配列が乱れ骨梁の萎縮がおこり一部では刈りとられた様な所見を呈している。

フ反応：関節腔内に於ては類上皮細胞、小単球等の反応陰性細胞が多く出現するため、全般的には1週に比しフ反応は減弱しているが多核白血球集団は強陽性を示し、類上皮細胞の前段階にあると思われる細胞、巨細胞の一部は弱陽性を呈する。又肉芽中及び周囲軟部組織中の小血管は内膜のみならず外膜細胞も陽性を示しているのがみられた。関節軟骨フ反応は略正常であるが肉芽侵入部附近では明かに減弱しその傾向は特に軟骨基礎板に於て著明である。骨端軟骨は軟骨細胞に於て多少の減弱を認めるが骨端部骨梁及び骨幹端部骨皮質ではむしろ増強し、特に内腔の拡大した骨小管内壁に強陽性で石灰代謝の亢進を窺わしめるものがある。

3. 3～4週を経過しても関節腔内は依然として腫張肥大し増殖した滑液膜及び肉芽組織で充満しているが、滲出細胞、滑液膜細胞の変性、崩壊が到る処にみられ且つフィブリンの析出が著明である。関節軟骨は圧迫壊死に陥り破壊、吸収されているものも多い。骨端骨髓にはフィブリンの析出、浮腫が大腿、脛骨共にみられ膝蓋骨に於ても同様の变化の認められたものあり骨髓内細胞の変性も同時にみられる。又骨端骨髓中に異所的石灰沈着及び関節軟骨基礎板の近くに著明な充血を認めたものもあつた。又結核性肉芽の侵入もみられるが線維形成細胞、線維細胞等の増殖性変化は比較的少く類上皮細胞及び巨細胞がみられるが一部には尚多核白血球集団が壊死に陥りつゝある所見も存している。骨端軟骨ではその一部は著しい変性及び配列の乱れをみるものもあるが、殆んど正常な配列を示すものが多く全般的には軟骨細胞における染色性が低下している傾向がみられる。

フ反応：関節軟部組織におけるフ反応は2週同様に全般的に減弱している。関節軟骨も圧迫壊死に陥っている表層部は全く陰性を呈し基礎板近くの軟骨細胞も陰性或は痕跡程度である。肉芽の侵入をみない部分の基礎板及びそれに近接した骨端骨梁、骨髓内細胞は陽性を示すものが多いが軟骨下に病変が及んでいる部分及び転移巣では周囲骨梁、骨髓内細胞何れもフ反応は著しく減少しており、フィブリン析出、浮腫のみられる部分では全く陰性である。骨端軟骨では増殖層、成熟層に於て著しく減少し、泡状層のフ反応陽性部の幅も短縮し僅かにみられる新生骨梁の周囲にもフ反応は極めて弱く化骨障害を思わしめる所見を呈している。骨幹端部では窩状吸収の行われている部分の破骨細胞及び骨小管内腔壁は強陽性を示すが骨皮質は全く陰性

である。

4. 5週に於ては、関節腔は肉芽組織で充滿し前後脂肪体にも浸潤が認められ巨細胞、類上皮細胞の集団を散見し、いわゆる繁殖性変化が強いがその周囲には血管増生が盛んで一部では線維形成細胞、線維細胞の増殖も相当程度にみられる。膝蓋骨関節面に多核白血球の破壊産物が一部集団となつてみられるものがあつたが、その部の関節軟骨は表層は吸収され近接した軟骨細胞の萎縮変形が認められ骨髓内に繁殖性と思われる転移巣がある。十字靱帯附着部より肉芽の骨端骨髓内侵入は尚著明で破壊されつゝある骨質の到る処に窩状吸収像がみられその部には線維芽細胞と思われるものが多く、恰もその一部が集合して破骨細胞を形成したと考えられるものが多数認められ、尚骨端骨髓に著明な脂肪変性、骨端軟骨からの異常な軟骨細胞の増殖をみたもの、骨端侵入部における広範な出血巣をみたものがあつた。骨端軟骨の配列は乱れ、成熟層の幅が一般に狭くなっているが一部のものでは骨皮質部近くで異常に増殖しているものも認められ全体として發育の不均衡がある。骨幹端部骨皮質は著しく菲薄となり、紡錘型細胞の骨小管内増殖により殆んど骨皮質を認め難い程の萎縮を来しているものもあり、破骨細胞の増殖による窩状吸収が極めて旺んである。

フ反応：関節腔内肉芽組織は一般的にフ反応が減弱しているが、これはその大部分がフ反応陰性の類上皮細胞、巨細胞で占められ繁殖性変化の強い事を示すものであろう。又骨端軟骨部に於て特に成熟層、泡状層、僅少な原始骨梁部におけるフ反応の減弱がみとめられ、肉芽の骨端骨髓への侵入部及び増殖した骨膜細胞の骨小管内増殖、破骨細胞による窩状吸収の行われている部分ではフ反応は著しく増強しており、又その部分の骨皮質は全く陰性である。膝蓋骨関節軟骨の萎縮変性部では陰性乃至痕跡程度となり、膝蓋骨々髓内転移巣も陰性細胞が多くそれに接した骨梁辺縁にも陽性細胞は見あたらない。

5. 7週に於ては依然として繁殖性変化が強いが増殖性変化も相当程度に混交してみられる。又関節腔内肉芽中及び関節腔外後方筋間に多核白血球集団或は膿瘍をみたものもあり滲出性変化の相当強度なものもみられた。然し週を追うに従つて此の様な滲出性変化は少くなり繁殖性よりも増殖性変化が強くなる。10週に於ては全例共に増殖性変化が強くなり陳旧性病像を呈している。尚7週における膿瘍内では大喰細胞が多くみられ、Necroseも自然吸収される傾向がみられる。十

字靱帯附着部及び滑液膜附着部より侵入した肉芽組織も線維形成細胞、線維細胞が多くなり、中に拡張した血管増生がみられるが、類上皮細胞、巨細胞、小単球、大単球も混交し典型的な陳旧性結核像を呈しこの様な肉芽組織は関節軟骨を内方から持ちあげて一部関節軟骨の基礎板及び周辺部骨梁を破壊している。尚骨端骨髓に於ては上述の肉芽組織の外側に破骨細胞が多数みられ骨梁の破壊が尚進行しつゝあるもの、脂肪髓のみみられるもの、転移巣が多数みられるもの等個体に依つて種々の変化を示している。骨端軟骨に於ても此の時期になると個体差がはげしく、軟骨細胞の配列が乱れ骨梁も刈りとられた様な所見を呈するものもあるが一部では原始骨梁が盛んに増生しつゝあるものもみられる。但し全般的には未だ化骨障害の恢復は弱く、骨端骨髓内病変の広範なものでは尚化骨障害の進行しつゝある所見がみられる。骨幹端部に於ては外骨膜細胞は依然として盛んに増殖しているが、その配列の方向は骨皮質に平行となる傾向があり、骨小管内腔に増殖した細胞も破骨の傾向から骨添加に移り10週では著しい骨皮質の肥厚及び骨端軟骨の端部で著しい軟骨細胞の増殖をみたものがあつた。尚骨幹端部、骨端部骨髓中にみられる転移巣では類上皮細胞のみで線維細胞は全くみられない。又近接骨梁辺縁にも紡錘型の造骨細胞は見当らず骨梁自体は染色性が薄くなり恰も融解吸収されて萎縮してゆく様な像がみられたがその程度は極めて軽度である。

フ反応：関節腔内外に見られる膿瘍はその中心部も依然としてフ反応強陽性を示し、多核白血球は勿論その崩壊産物も比較的長期にわたつてフ反応を示す。然し大喰細胞に喰食されつゝある部分では弱陽性乃至陰性である。又関節腔内肉芽中類上皮細胞、巨細胞、小単球は陰性を示し、線維形成細胞及び線維細胞の一部は陽性、時に強陽性を示すため両者の量的並に質的比率はフ反応を以て明瞭にうかがう事が出来、7週より10～12週と週を経過するに従つて線維形成細胞、線維細胞が多くなる傾向を知り得るが、結核性肉芽、小単球は比較的長期にわたつて残存するものである。関節軟骨自体は関節腔内肉芽に接した部分及び骨端骨髓側からの肉芽に接している部分では明らかにフ反応減少している。骨端軟骨に於ても軟骨細胞の配列の乱れている部分及び骨梁新生部では明らかに減弱しているものもみられるが、部分的には強陽性のものも多くこの比率は個体による差が大きい。骨幹端部に於ては増殖しつゝある外骨膜細胞は強陽性を示し、肥厚しつゝあ

る部分の骨膜細胞、骨小管内腔に配列している細胞は強陽性を示し、新生骨細胞も陽性度が高い。又骨幹端部及び骨幹部における骨髓内細胞は陽性乃至強陽性を示すものも多いが転移巣の部分のみ円形の島状をなしてフ反応陰性であり、H. E. 染色と比較して明瞭に転移巣である事を確認することが出来る。又大きな転移巣に於ては直接した骨梁辺縁のフ反応全く陰性で恰も骨梁が融解して菲薄となる如き観を呈するが、骨端部に於ては線維形成細胞が多数混交し、血管増生もみられる様になると骨梁に著明な窩状吸収像があらわれ、その部のフ反応は陽性乃至強陽性を示す。更に陳旧期に入り骨萎縮がみられなくなると正常化する。

6. 12週以後25週迄は、それぞれの個体差は認められるが、未感染群同様の経過を辿り両者の間に有意の差は認められないので以下省略する。

小 括

結核アレルギー状態にある既感染群に於ては、初期変化が未感染群に比して強く結核性炎症像も早期に発現する。即ち

1. 関節腔に於ては菌接種後2～3日で著明な滲出性炎症がみられフ反応も強い。1週を経過すると多核白血球集団の一部に Necrobiosis の所見があらわれ、化膿状を呈して来る。未感染群に比してフ反応陰性の小単球が少く多核白血球の比率が多い為、全般的なフ反応も強い。併し2週に於て既に類上皮細胞を主体とする結核結節が発現し、3～5週頃よりラングハンス巨細胞もあらわれ、多核白血球の比率が稍減少し、大小単球が増加して来る。又類上皮細胞を主体とする結核結節も未感染群に比し多く且つ大きな集団を形成する傾向がある。従つて3週頃より関節腔は肉芽組織で充滿し、繁殖性肉芽の増加と併行して血管増生、線維形成細胞の増殖も強くあらわれて来る。又5～7週では繁殖性変化が強くフ反応も減弱の傾向がみられる反面、部分的には膿瘍形成像が多い。7～10週に於てもフ反応強陽性を示す膿瘍がみられ初期滲出機転の烈しさが窺われ、且つ膿瘍内石灰沈着も未感染群に比して比較的多い傾向がある。10～12週に到ると増殖性機転は増強し、類上皮細胞、小単球、巨細胞、膿瘍は部分的に比較的長期間遺残する傾向がみられるが以後は未感染群と同様の経過を辿つて鎮静期に移行してゆく。

2. 関節軟骨及び骨端部に於ては、菌接種後1～2週より十字靭帯附着部からの骨端骨髓内肉芽の侵入をみるが附着部は化膿状を呈しているものが多い。3週頃より関節腔内に肉芽で充滿してくると、関節軟骨表

層及び中間層のフ反応は減弱し、軟骨細胞が肉芽の圧迫により変性し壊死に陥つてくるとフ反応消失、メタクロマジー反応の減弱が著明となり、この部分から骨端骨髓内に肉芽の侵入するものもみられた。即ち未感染群に比して関節軟骨の変化は強く且つ早期にあらわれるが、これは肉芽組織の発育が比較的急速であり、その圧迫による二次的变化と考えられる。骨端骨髓内に於ても多核白血球に起因する二次的乾酪化像がみられフ反応は強く、異所的石灰沈着の認められるものもあつた。骨端軟骨では2～3週頃より泡状層、原始骨梁辺縁のフ反応の減弱、及び原始骨梁周辺の部分的増強所見がみられた。3～5週では軟骨細胞の配列の乱れ、増殖層、成熟層のフ反応の減弱と共に、泡状層中フ反応陽性部の幅は短縮し化骨障害を思わせる所見の著明にみられるものもあつたが、個体差が著しくフ反応の量的な変化は確實には追求し得ない。然し、骨端骨髓内病巣の広範なもの程、又その滲出性変化の強いもの程骨端軟骨における化骨障害の程度は強い。

3. 骨幹端部に於ては、菌接種後1週より外骨膜のフ反応は著明に増強し、殊に幼若な骨膜細胞が拡大した骨小管内に侵入し骨皮質全体として著明な窩状吸収がみられるが、この様な変化は3～5週に於てもつとも烈しく骨小管内腔に於て増殖しつつある紡錘形骨膜細胞、破骨細胞はフ反応強陽性を示し、それに接した骨細胞は原形質内フ反応消失すると共に樹枝状突起もフ反応消失して破壊吸収され、石灰代謝の旺盛な事を窺わせる所見を呈している。5週を頂点としてフ反応は減弱の傾向を示し7～10週に於ては骨膜細胞のフ反応は中等度となり、破骨細胞もフ反応痕跡程度のものがみられる様になり、骨小管内腔も狭少化する。又鎮静期に入ると骨膜細胞は正常配列を示し、むしろ骨皮質の異常肥厚を来す様になる。

4. 骨髓内骨梁の変化、骨髓内細胞、骨髓内転移巣のフ反応は未感染群と略同様の所見を示し、鎮静期に於てはむしろ治癒傾向の強いものもみられた。

第4章 総括ならびに考按

実験的関節結核に於ては既に詳述した如く、主病巣の変化と併行して周囲骨軟骨組織の比較的広範な反応性変化がみられるが、結核菌に対する防禦的生体反応も強い。又病巣周囲の中胚葉性細胞による病巣の限局化乃至は再生修復傾向も著しく、肺その他の臓器結核とは甚だ異つた特異的な組織反応を呈する。

Al-P-ase は細胞の種類、その機能状態の変化、変

性壊死、乾酪化、異所的石灰沈着、骨軟骨の萎縮或は再生修復に際してそれぞれ特有な経過を辿り、形態学的変化とフ反応の消長には密接な関係がみられるが、この様な複雑な代謝機構に於て病巣及び周囲骨軟骨組織に多量に出現する Al-P-ase は果して如何なる役割りを演じているのであろうか。

云う迄もなくフォスファターゼは生体における代謝機構にもつとも重要な各種磷酸エステル、合成に関与する酵素であり、就中 Al-P-ase は生理的にも骨軟骨代謝の行われている部分、腸粘膜特に小腸粘膜上皮、腎皮質特に尿細管主部上皮、膀胱及び胆嚢粘膜、肝、神経組織、発育期歯牙、卵巣、子宮粘膜、乳汁、血液に多く含まれている。腸粘膜に於ては、含水炭素は磷酸エステル化してはじめて酸化分解されるものであるが、この際糖磷酸エステルとして上皮細胞に入つて来たものは Al-P-ase によつて水解され血中に送り出されるものであり、含水炭素、脂肪の吸収機転に必須の役割りを演じている。又腎皮質に多量に存在する Al-P-ase は生体内触媒として作用する各種磷酸塩の生成、排泄に関与し、且つ又此の事は体液の酸、アルカリ平衡の維持にも密接な関係を有している。その他組織細胞自体の機能、血中塩類の調節、乳汁及び前立腺分泌、神経機能にも関係し、病的状態に於ては此等諸臓器のフ反応は種々の変化を示す。更に又炎症病巣 (Gomori, 高松, 武内, 中川) 創傷治癒過程 (Fell, Danielli, 横井, 樺木) 腫瘍組織 (高松, 大月, Gomori, Mc Kelvie) に於ても組織細胞活動の旺んな部分に増強する事から蛋白合成、細胞の分化にも密接な関係を有する事が知られている。

骨、軟骨組織については Robinson (1923) が佝僂病ラットの骨端軟骨部薄片を種々の磷酸エステル、カルシウム溶液に浸しておくと Al-P-ase を多量に含む造骨細胞の近く又は肥大軟骨細胞に磷酸カルシウムの沈着を来す実験から、血液及び組織液中の磷酸エステルが Al-P-ase によつて水解され、遊離した磷酸がカルシウムと結合してその溶解度を越え石灰沈着を来すと云う所謂石灰化機序の Al-P-ase 説を提唱して以来、石灰代謝機転に関する研究はにわかに盛んとなつて来た。

即ち脊椎動物、軟体動物の胎仔、新生仔の骨塩沈着については Horowitz, Gomori, Zorzoli, Lorch, Bevelander & Johnson, Pritchard, Rossi, Sylen, Siffert, 高松, 古田等、脱灰した成熟骨についても Lorch, Bourne, Majno & Rouiller, Greep, Morse,

Schjajwitz, 蒲原等の研究があり、更に骨折、骨損傷の治癒過程 (Bourne, Pritchard, Majro & Rouiller, 岩, 玉井, 原田)、骨腫瘍 (高松, McKelvie) に関する報告もみられる。又所謂 Bone slice method, 組織培養による in vitro の研究 (Gutman, Distefano, 立岩, Neuman, Mulryan, Robinson etc.) の発達につれて石灰化機序については更に詳細な研究がなされつゝある。

現在石灰化機序については Al-P-ase 説, グリコーゲン説, 梁板説 (Template theory) 等の仮説があり、何れも可成りの合理性と矛盾を含み決定的な結論は得られていないが、骨軟骨組織の複雑な化学構造から一説のみでは論じ得ない事、又単なる沈着によるものでない事は当然で、局所に出現する Al-P-ase, グリコーゲン, 梁板を形成するコンドロイチン硫酸, コラーゲンの複合体, 磷酸エステルが如何なる関連を有し且つ骨塩結晶が如何なる形で積層され又分解されてゆくかは尚今後の問題であらう。

Al-P-ase 説については 1) 生体局所に骨塩が沈着する場合、磷酸エステルを多量必要とするわけであるが、血清、組織液及び骨組織中における磷酸エステル量は甚だ少い。2) 佝僂病骨端軟骨には Al-P-ase が多量存在するに拘らず石灰化障害を示し、しかも血漿中 Al-P-ase は増加し血中磷酸エステルは正常値を示す。3) 小腸、腎の如く Al-P-ase を多量に含む臓器でも石灰沈着は起らない。又骨肉腫では骨破壊吸収の著しい部分の腫瘍細胞に Al-P-ase が高度にあらわれる。4) Al-P-ase を不活性にしても $\text{Ca}^{++} \times \text{PO}_4^{--}$ が高濃度であれば純物理化学的にも石灰沈着は起り得る。5) 磷酸イオンの存在なくしてもコラーゲンを主とする高分子糖蛋白体はカルシウムと結合して骨塩沈着は起り得る。又 Al-P-ase の最適 pH 9.0~9.3 の如きは生体内では起り得ない等多くの矛盾を含んでおり、Robinson もその後の研究で Second Mechanism を考えねばならないと述べている。

然し乍ら骨塩沈着の前段階に於て、磷酸エステル分解酵素である Al-P-ase が増強する事、軟体魚類の化骨、線維性化骨に際してもフ反応陽性部にはじめて骨塩の沈着を来す事、膀胱粘膜等の移植による骨誘導実験、磷酸エステルが存在すれば $\text{Ca}^{++} \times \text{PO}_4^{--}$ が低くても石灰沈着を来し易い事を説く学者もあり、Al-P-ase は骨基質形成に関与する以外に石灰沈着そのものにも何らかの関係があることを推論出来る。

軟骨細胞にグリコーゲンが存在する事は古くから知

られているが Harris, Glock, Gutman, Horowitz, Marks & Shorr, Pritchard は化骨前の肥大軟骨細胞及び前造骨細胞は相当量のグリコーゲンを含み石灰化と共にこれが消失する事から、解糖作用の過程に於て2,3の磷酸エステルが形成され、それがAl-P-aseの基質として働くという Phosphorylase-Phosphatase の double enzyme system (Gutman) の説をたて、更にグリコーゲンの唾液消化による石灰化障害、Glucose-1-phosphate を加えた時の石灰化再現実験により、グリコーゲンが Al-P-ase に対しその基質である磷酸エステルを供給すると説明して Al-P-ase 説を支持した。

然し急速な細胞分化過程に於ては多くの細胞はグリコーゲンの増加を示すことから、骨形成前の細胞におけるグリコーゲンの増加は必ずしも石灰沈着の爲の無機磷酸イオンの基質を産生するだけのものではなく、石灰化のためのエネルギー源とも考えられ、同時に類骨組織の一部を形成する粘液多糖類、蛋白質の分泌にも関係があると云われている (Pritchard, Follis, Borghese). 又岩の骨折実験でも Al-P-ase と磷酸塩分布の不一致を認め、立岩は詳細な組織培養実験を行つて Al-P-ase は肥大軟骨細胞層の基質に著明に陽性となるが、骨塩の沈着とメタクロマジー性物質の消失を伴わない事及び種々の阻害実験から Al-P-ase 及びグリコーゲンが石灰沈着に対して必須不可欠な条件として受け容れるには可成りの矛盾がみられると述べている。然し乍ら Glycogenolysis が石灰化に何らかの関係を有している事は Albaum, Hirschfeld, Sobel のクロマトグラフィー分析実験からも明かであり、Al-P-ase との関係については尚検討の余地があると考えられる。

此等の問題とは別に Logan は軟骨が化骨する際、コンドロイチン硫酸 (以下コ硫と略) が消失する事を報告し、Hass も同様の事実からコ硫の高度のレベルの維持は石灰化を防ぐものであると述べている。又 Sylven は胎生児石灰化ではコ硫の急速な減少と同時に Al-P-ase の増加があり、石灰化しない軟骨では逆にコ硫が多く Al-P-ase は殆んどない。従つてコ硫の消失は骨形成細胞の活動に先行する一条件であるとし、Robinson & Watson は電子顕微鏡でコラーゲン線維中にある特異な線維束の間に骨塩の沈着する事を認めた。更に Distefano, Neuman & Rauser (1953) は梁板として働く基質の中にカルシウム及びリンと結合する物質があり、これはコ硫がコラーゲンと

の関連のもとにカルシウムイオンとの複合体を形成すると云う所謂梁板説 (Template theory) を提唱した。又 Sobel & Berger も軟骨基質の主成分であるコ硫或は骨基質を形成する複合蛋白体がイオン交換作用等の重合度の変化を来すと共に先ずカルシウムと結合し磷酸はそのあとに結合すると述べ、コ硫とコラーゲンの複合体は酵素の介在なくしても骨塩の沈着を来し得ると述べている。これに対し Distefano 等も石灰化能のある軟骨中にトリクロール醋酸で分解されない基質と結合した磷酸エステルを発見しているが、これは梁板の結晶化を助けるものであり、Al-P-ase はその形成及びその他に存在する磷酸エステルの分解に関与し骨塩結晶の増大を来さしめ軟骨の石灰化能とも相関々係を有すると説明しているが、これは Roche の生化学的研究における骨梁形成の複雑な分解合成過程における Al-P-ase 作用の関与を裏づけるものと云えよう。

その他 Danielli, Fell, 横井等は皮膚、筋肉の損傷治癒過程に於て、Al-P-ase は線維形成細胞中に増加するが癒痕化と共に減弱消失する事を述べ、Bradfield は昆虫の絹分泌細胞に多量の活動的な Al-ase の存在する事を発見し線維蛋白の合成に関与すると論じている。同様に Bourne も骨損傷実験で初期に出現する線維細胞中にその活性が著しく高まる事から骨蛋白基質形成への関与を主張し、Cappelin, 岩は骨基質形成の時期における造骨細胞の Al-P-ase の増強及び Al-P-ase と磷酸塩分布の不一致から石灰沈着よりも、核酸、細胞分化、骨基質の形成に意義を見出すと云い、Rodava は組織培養法によつて osteogenic fibres の形成と Al-P-ase との関係を重視している。

此の様に石灰代謝機構の主眼点は骨塩沈着そのものから骨形成細胞の問題及び梁板を形成するコラーゲン、コ硫等の如き高重合糖蛋白複合体の化学的特異性に向けられて来たが、生体内石灰代謝そのものにも生理的、病的代謝、異所的石灰沈着等があり、一律に論断し得ない事は当然であり且つ又一種の Katalysator に過ぎない Al-P-ase のみで推論出来ない事は論を俟たないところである。

然し実験的関節結核における病巣及び周囲骨軟骨組織に種々な消長を示す Al-P-ase を一指標として複雑な骨軟骨代謝の動的機転の一端を窺い知ると共にその生物学的意義についても考究してみたいと思う。

1) 主病巣に於ける組織反応の特異性とフ反応

モルモット膝関節に結核菌を接種すると、多核白血球、比較的多くのリンパ球及び大単球の滲出を見、漿膜炎性炎症としての特徴を示すが、3乃至5週に於て関節腔内浸潤細胞のフ反応はもつとも強く、滲出機転の旺盛な時期には病巣全体が瀰漫性に該反応を呈し拡散現象も強い。病巣に出現する細胞では多核白血球はすべて強陽性、大単球及び線維形成細胞は中等度乃至強陽性、線維細胞及び大単球中稍核の明るい前類上皮細胞と思われるもの、滑液膜細胞の一部は弱陽性、リンパ球、類上皮細胞、巨細胞は陰性を示す。此の様な病巣フ反応について Gomori 等は周囲組織液中の Al-P-ase が拡散乃至滲透してくるものを重視しているが、正常血液中では必ずしもすべての多核白血球が強陽性を示さないに拘らず、初期病巣にあらわれる多核白血球はすべて強陽性を示し拡散現象もみられること、しかも細胞が崩壊し核片となり膿瘍を形成しても比較的長期間フ反応強陽性を維持するが、陳旧化してくるとフ反応減弱の傾向がみられること、又類上皮細胞を主体とする結核性肉芽の繁殖旺盛な7~10週では全体としてのフ反応の減弱を来すこと等から初期病巣における著しいフ反応の増強は髙松、武内、服部等の述べる如く、その大部分は多核白血球に由来するものと考えられる。

では此の様な滲出病巣の Al-P-ase は如何なる役割りを演じているのであろうか。多核白血球は蛋白分解酵素やオキシダーゼを有し、破壊された組織片の分解、吸収に関与しているが、同時に上述の如く著しく Al-P-ase 活性の高まる事から磷酸塩の分解、合成による局所酸、アルカリ平衡の調整或は組織の崩壊産物の処理に役立ち局所における清浄作用に重要な役割りを演じていると考えられる。

更に又、滲出性病巣が石灰化を来し易い事は古くから知られた事実であるが、特に実験的骨関節結核病巣に於ては、滲出性病巣が壊死に陥り、二次的乾酪化、膿瘍形成を来す場合、多核白血球が崩壊し核片になつてもフ反応は依然として強く、此の様な核片が多数存在する部位に Kossa 法によつて種々の形の石灰沈着がみられた。且つ又類上皮細胞のみの繁殖病巣の中心壊死部では Al-P-ase 全く陰性で石灰の沈着も認め得なかつた事から滲出病巣の Al-P-ase 及び局所磷酸の増加は異所的石灰沈着に若干関与する可能性が認められる。

但しフ反応強陽性を示す滲出巣全体が必ずしも石灰沈着を招来するものではなく、主として多核白血球の

崩壊産物である核片集団を中心として小石灰沈着がみられること及び20~30週でフ反応陰性化した部位にも比較的大きな石灰化巣がみられること等より Al-P-ase 以外の要素も考慮に入れるべきは当然であり、骨関節結核の如きカルシウム及び磷が多量に存在し、しかもそれらが反応性に烈しい移動を示す病巣ではイオン化の形で Ca^{++} 及び PO_4^{--} の濃度も高い事は充分考慮に入れらるべきであり、その分解合成に Al-P-ase が関与する事も考えられる。又影山、西山は糖蛋白質の変性が石灰沈着の基質をなすと云い、服部は核酸を基核にして石灰が沈着すると主張しているが、著者の実験では滲出病巣が壊死に陥ると PAS 反応強陽性となり、その部分に石灰沈着を来す事が多いが、PAS 反応陽性部と石灰沈着とは必ずしも一致しない。又膿瘍中には pH 2.5~4.1 で紫色乃至ピンク色を呈するメタクロマジー反応もみられるが、これも必ずしも石灰沈着と一致しない。従つてこの様な異所的石灰沈着の基核をなす物質が何であろうかと云う事については検索不充分で充分論及する段階には到っていないが、何れにしても服部等の云う如く核片を中心として沈着し易い事は認められ、しかも骨破壊と滲出性変化の強いものでは他の臓器結核に比し異所的石灰沈着を招来する傾向が強い事は認められる。石灰の沈着そのものは Judet、髙松も認めている如く Al-P-ase なくしても局所 pH、その他細胞外の純物理化学的な原因でも起り得るものであり、しかも滲出巣における此の様な退行変性としての石灰沈着にはそれらの要素が多分に入つて来ると思われる。又何らかの基核となる物質があつてはじめて石灰核結晶は積層されてゆくものであるから高分子糖蛋白質の複雑な複合体の介在も考慮しなければならない。

然し著者の実験では、とも角初期石灰化が核片を中心として、フ反応の異常に強い部分に起り易い事から、この多核白血球に由来する Al-P-ase による局所磷酸イオンの増加は、骨組織中におけるカルシウムの急劇な代謝亢進と相俟つて石灰沈着を来し易い一要素となつている事は否定出来ない。滲出病巣内に或は以前明かに滲出巣であつたと考えられる部分に大きな腐骨が存在し、しかも腐骨の存在する部分では結合織による非特異化が仲々起り易く長期間に亘つて陳旧性結核像を呈するものも此の様な滲出機転がその一因をなすのではなからうか。

次に主病巣における類上皮細胞、リンパ球、巨細胞はフ反応陰性であるが大単球の核が淡くなつた前類上

皮細胞と思われるものは中等度乃至弱陽性を示し、線維形成細胞は中等度乃至強陽性を示し線維細胞も比較的長期間陽性を保つが漸次反応は減弱し癒着組織では全く陰性となる。即ち或種の細胞では細胞自体の増殖の旺盛な時期及び生活機能の高まっている時にはフ反応増強し、細胞機能の減弱と併行してフ反応も減弱するもので細胞体内における物質代謝に関係していると考えられる。滲出期及び非特異性肉芽の増殖旺盛な時期に小血管及び毛細血管におけるフ反応増強も同意義を有するものであろう。

以上の所見より主病巣にあらわれる Al-P-ase は細胞特有の機能の一端を示すほか、細胞自体の変化と併行するものであり病巣の状況に順応して増減を示す一種の適応酵素と見做し得る。従つてフ反応の消長によつて病巣組織の形態学的変化がどの方向を指向しているかその動的機転を窺ひ知る一つの目標ともなり得ると考えられる。

2) 病巣周囲骨軟骨における組織反応の特異性とフ反応

関節腔内病変が骨端部に波及すると、病巣局所のみならず骨端軟骨、骨端幹部、骨幹及び骨端骨髓にも著明な石灰吸収機転がみられるが、滲出期より繁殖期に移行すると稍鎮静化し、増殖期に入ると骨、軟骨の再生修復機転、石灰沈着が起り特有な病巣の限局化と骨軟骨肥厚がみられるに至る。

即ち病巣近接部では骨髓内細胞、骨梁表層及び辺縁部細胞のフ反応は減弱し、関節軟骨下或は骨端軟骨層に病変が侵入するとそれに近接した部分ではフ反応は急速に減弱乃至消失しメタクロマジー反応も減弱する。PAS 反応は此の時期には特に強くはないが関節軟骨の一部が軟骨下肉芽により離断遊離され壊死に陥ると Al-P-ase をもつとも多量に含む軟骨基礎板のフ反応消失と共に PAS 反応は濃染する。此の事は軟骨が壊死に陥ると、コ硫がその重合度を減じて硫酸を放つと共にヒドロキシル基を遊離させるため加水分解産物はグリコール基-CHOH-CHOH 群を含む様になり、従つて Shiff 液に強く反応すると云う Lison の説を裏づけるものと云えよう。又修復期に入ると増殖した関節軟骨細胞では石灰化を来す前の基礎板に於てメタクロマジー反応(pH 2.5)消失すると共に Al-Pase の増強がみられる事は軟骨化骨における SyIven の実験と同様の結果であり、その解釈には尚検討を要するがコ硫の解離と石灰沈着及び、Al-P-ase 活性との間には何らかの相関関係のある事は想像される。

又骨軟骨細胞自体の萎縮変性はフ反応減弱の形で現われるが、病巣近接部における骨萎縮は病巣の性状に強く左右される。即ち骨髓内病巣がフ反応陰性の類上皮細胞群から成る繁殖型である場合或は転移巣の場合、周囲骨軟骨細胞のフ反応減弱範囲は比較的狭く骨梁の著しい窩状吸収像はみられず恰も極めて弱い融解吸収が起つている様な所見を呈し骨梁そのものの破壊は極めて弱く且つ病巣自体の自然修復乃至吸収像も一部にみられる。これに反して結核性肉芽中に滲出性変化を伴う場合は周囲骨髓内細胞のフ反応は広範囲に減少する。此の様な滲出病巣に更にフ反応陽性の線維形成細胞が出現し増殖性及び繁殖性変化が殆んど同率に併行して旺盛な3~5~7週に於ては周囲骨梁の窩状吸収による破壊はもつとも盛んとなり局所における骨萎縮は此の時期にもつとも著しい進行を示す。

次いで滲出性病変の吸収、類上皮細胞の萎縮消失がおこり鍍銀線維の発達及び小血管を多数伴う非特異性肉芽の比率が増加してくると周囲骨梁の破壊は鎮静化し、更にフ反応強陽性の線維形成細胞が多数あらわれていると骨梁辺縁に於てはフ反応強陽性の幼若中胚葉細胞の直接化生による造骨細胞の出現、骨梁の肥厚添加がみられるに至り、更に時期を経ると異常に増殖肥厚した骨梁及び関節軟骨の骨壁による強固な被包化が屢々みられるに至る。

此の様な病巣部骨変化と併行して病巣に直接していない骨端軟骨及び骨幹端部に於てもレ線学的に骨萎縮がみられるが、フ反応所見からみると病巣部とは著しく異つた像を呈する。即ち骨幹端部及び骨端軟骨予備石灰化層に於てはレ線学的に骨萎縮の現われる前段階(菌接種後2~3週)よりフ反応は急劇に増強する。殊に骨幹端部に於てはフ反応強陽性未分化骨膜細胞が著明に増殖しハーベル氏管内に侵入し、その内腔を拡大するため骨皮質は圧迫吸収され到る処に窩状吸収像がみられる。此の際骨小管内に充満した骨膜性細胞はフ反応強陽性を示すが、それに接した骨細胞はフ反応減弱し樹枝状突起のフ反応も消失すると共に骨皮質は蚕蝕され処々にフ反応陽性の破骨細胞が出現して来る。此の様な所見は3~5~7週に強く病巣局所における骨軟骨萎縮発現部に全般的フ反応減弱がみられるのと対照的である。

鎮静期に入ると、先ず未分化骨膜性細胞の増殖が停止すると共にフ反応は減弱傾向を示し骨皮質及び骨梁の破壊も認め難くなるが、修復期に入ると再び骨膜内層細胞はフ反応増強と共に骨小管内及び骨皮質に接し

て規則正しい配列を示して増殖し、同時に骨皮質、骨梁の添加肥厚が急速に行われる。しかも健側に比し肥厚の程度は遙かに強い。即ち結核病巣周囲の骨軟骨組織は異常に強い再生修復力を有していると考えよう。

上述の如く骨関節結核に於ては骨軟骨の修復時のみならず骨組織の破壊吸収時にも著明な Al-P-ase の増強がみられる事は、従来石灰沈着機転と結びつけられて考えられていた Al-P-ase 説に反省をうながすものである。

骨萎縮の旺盛な時期には骨小管を通じて骨皮質内に侵入する未分化骨膜細胞は恰も悪性腫瘍の如くその配列が不整でしかも細胞の大きさも不整であり、中にフ反応強陽性の破骨細胞をみる事も多いが、修復期における骨膜性細胞の増殖は配列がハーベル氏管及び骨皮質の走行と併行し、しかも整然とした配列を示す。又フ反応は旺盛期の骨萎縮時の方がむしろ強い観がある。この事は久木田が神経、血管、栄養障害性骨萎縮に於てフ反応の全体的低下、陽性領域の減少を認めた実験と著しく異なるところであり、此等の非恢復性骨萎縮と全く逆に、骨関節結核の骨萎縮は結核菌侵入に対する生体の反応性防禦機転の一つで一過性のものであり病巣の鎮静化と共に完全に恢復し、しかも異常に強い再生修復力を示す可能性を温存していると考えられる。

又未分化骨膜性細胞に強くあらわれるフ反応は細胞の分化、蛋白合成に關与するののか或は梁板を形成している磷酸エステルの水解合成に關与するののか明かではないが恐らくこの両者の作用があるのではないかと推論される。骨萎縮のものについて考えると、結核菌の関節腔内侵入によつて局所 pH 等何らかの化学的原因によつて一過性の脱カルシウムが旺盛におこり、ついでムコイド変性に陥り軟化した骨蛋白質質の処理にフ反応陽性骨膜性細胞、破骨細胞が多量に発生すると考えられ、此の際フ反応陽性細胞の増殖は一次的意義もあるが破骨細胞の出現は二次的なもので骨破壊吸収自体には必ずしも破骨細胞の存在を必要としないと考えられる。又修復期に於ける Al-P-ase の増加は造骨細胞の活性、分化増殖と併行することから骨基質形成に關与する事は明らかである。骨梁、骨皮質の添加肥厚は単なる石灰塩の沈着ではなく Roche も述べている如く数次の段階を経てはじめて骨質が完成する事及び骨萎縮発現当初にも Al-P-ase の増強を来す事からみて Al-P-ase は局所における磷酸及び磷酸エステルの平衡調節によつて骨軟骨代謝を正又は負の方向

に導く一因子をなす可能性も考えられ、骨関節結核に於ては病巣の性状に応じて正又は負の方向に極めて強い活性を示す。従つて病巣局所が鎮静化の方向に傾くと同時に周囲骨軟骨組織は他の臓器結核に比し遙かに強い再生修復力を示す特異性を有していると考えられる。

第5章 結 語

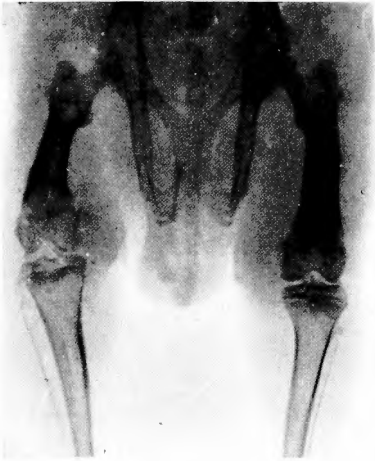
結核未感染及び既感染2群のモルモットに実験的関節結核の惹起せしめ、レ線学的に経過を観察すると共に、結核主病巣及び周囲骨軟骨組織における組織反応の特異性並びにその動的機転を組織学的、組織化学的に追求した。

1) 関節腔内病変が十字靱帯又は滑液膜附着部から骨端骨髓に侵入し、2次的骨結核を発生する頃より、レ線学的には限局性透明巣があらわれ、次いで骨髓全体が朦朧像を呈するが、此の時期には主病巣の滲出機転が強骨皮質、骨梁の破壊吸収も著しく、その部におけるフ反応も増強する。此の様な骨萎縮は菌の種類及び個体によつてその発現度の差は見られるが、既感染群により早く発現する事から局所抵抗減弱の一因としてアレルギー性機序の関与も考えられる。

2) 滲出性機転が減弱し、主病巣に結核特異性肉芽の繁殖が旺盛となる時期では破骨吸収機転は稍鎮静化し、フ反応の減弱と共にレ線学的には澄明な骨萎縮像を呈して来る。次いで増殖性変化が強くなり結合組織細胞による主病巣の被包化が現われる時期では、周囲骨梁及び骨幹端部骨皮質ではフ反応強陽性の中胚葉性細胞の著しい増加を伴い骨質の添加肥厚を来し、レ線学的にも硬化肥厚が健側より著明にみられるに至る。

3) 病巣に直接している骨梁の変化は、周囲病巣の性状に左右されるが、滲出性及び繁殖性病変が併存している部分に線維芽細胞の増殖が加わる初期に於て骨梁の破壊吸収はもつとも烈しい。又繁殖性変化のみの存在する部分では骨梁の窩状吸収は殆んど認められず、殊に血行性転移巣は孤立繁殖巣の所見を呈するので骨梁破壊は極めて弱く且つ自然治癒傾向が甚だ強い。

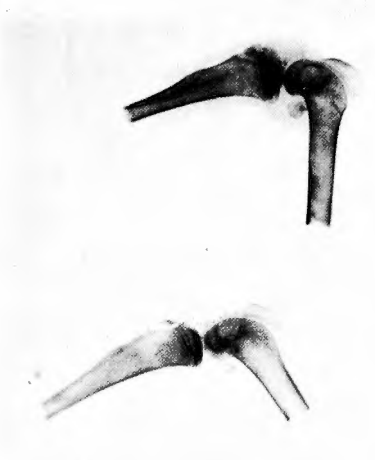
4) 関節軟骨の変性破壊は関節腔内肉芽の圧迫に因るものも多いが、高度の変性壊死に陥るものは軟骨下に侵入した肉芽により軟骨基礎枝が破壊吸収された為の栄養障害に起因すると考えられる。此の様に二次的変性により剝離された軟骨はPAS反応強陽性、メタクロマジー、フ反応共に殆んど消失し再生能が全くみ



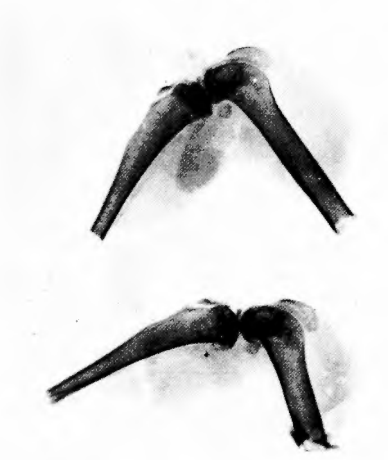
(1) 菌接種後7週 (左:患側)



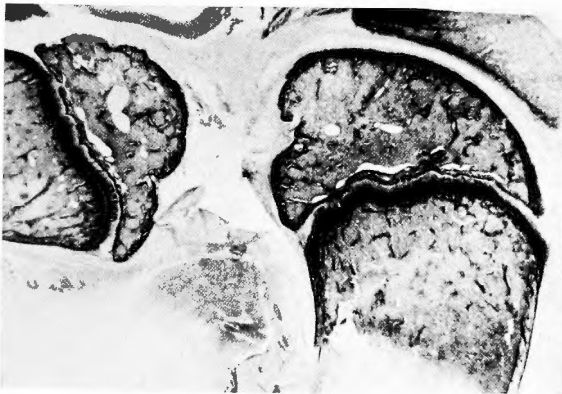
(2) 菌接種後15週 (左:患側)



(3) 菌接種後7週 (上:患側)



(4) 既感染, 菌接種後2週 (上:患側)



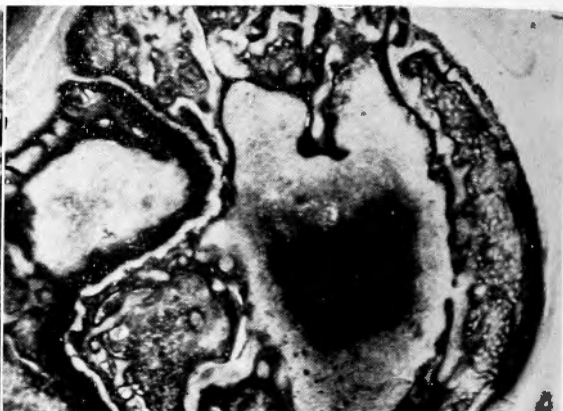
(5) Al-P-ase染色
健常モルモット膝関節



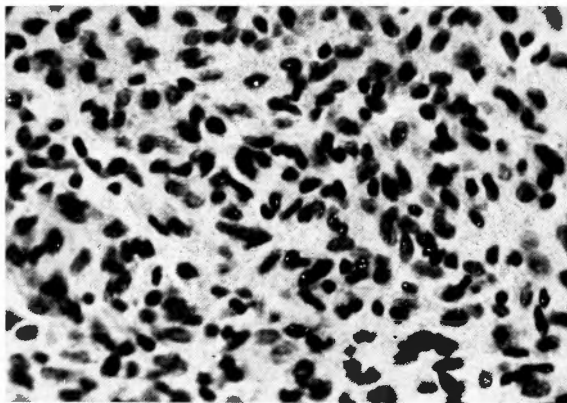
(6) Al-P-ase 染色
実験的膝関節結核, 菌接種後2週目,
骨端骨髓内細胞のフ反応減弱を認める。



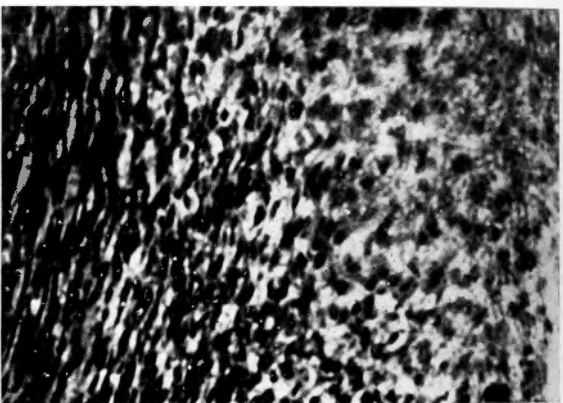
(7) Al-P-ase 染色
骨破壊の旺盛な骨幹端部骨皮質；不規則に配列した骨膜細胞のフ反応増強が著明である。



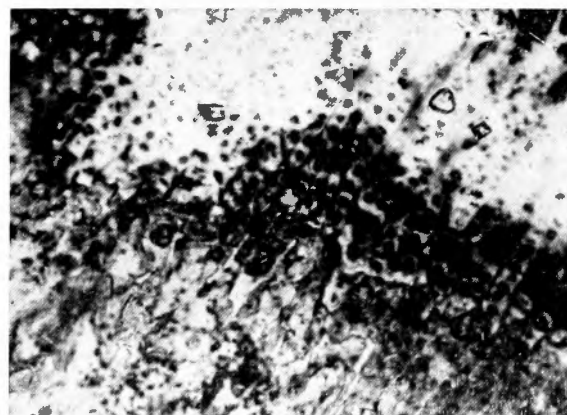
(8) Al-P-ase 染色
骨端骨髓内の滲出性壊死巣；壊死部のフ反応強く、異所的石灰沈着も認められる。



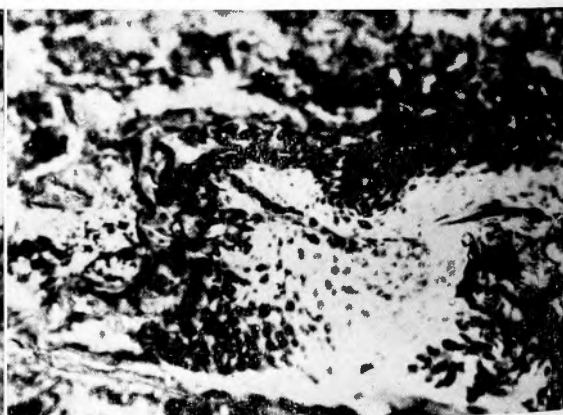
(9) Al-P-ase 染色
関節腔内の肉芽組織；多核白血球(++)~(+++), 大単球(+)~(++)、前類上皮細胞(+), 類上皮細胞(-), 淋巴球(-), 巨細胞(-)~(+)



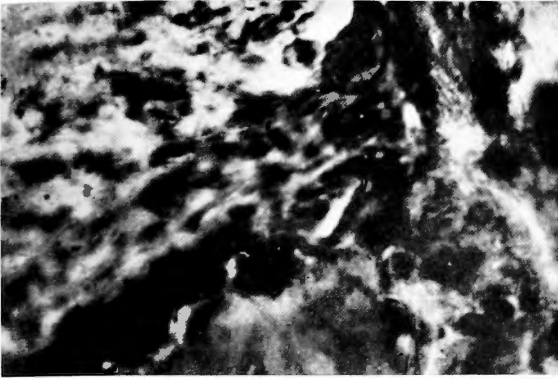
(10) Al-P-ase 染色
関節腔内の増殖性肉芽組織；線維形成細胞(++)~(+++), 線維細胞(+~+), 淋巴球(-), 類上皮細胞(-)



(11) Al-P-ase 染色
骨端軟骨，軟骨細胞フ反応減弱部では原始骨梁のフ反応も弱く破骨細胞(+)~(++)



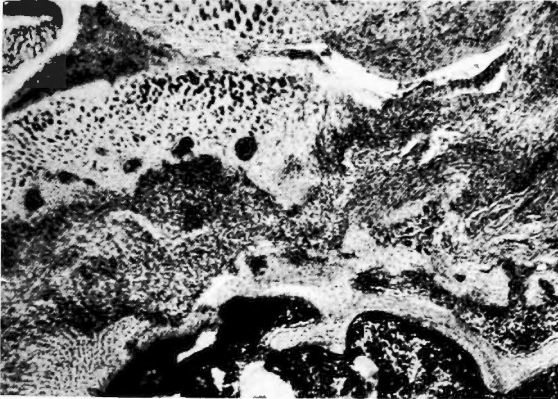
(12) Al-P-ase 染色
骨端軟骨フ反応の減弱は病巣に近接した骨髓内細胞フ反応の減弱と略平行する。



(13) Al-P-ase 染色
窩状吸収の行われている骨梁の破骨細胞はフ反応強陽性を示す。



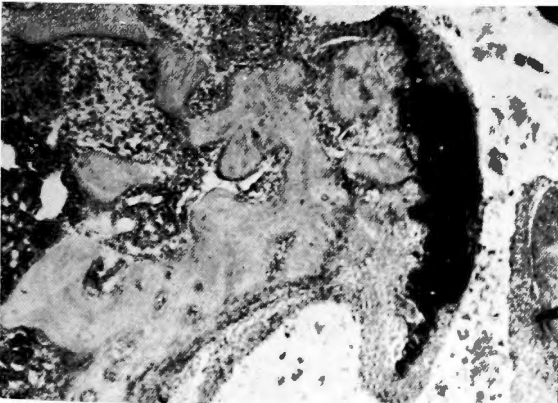
(14) Al-P-ase 染色
窩状吸収の行われる部位では骨細胞及び樹枝状突起のフ反応も減弱乃至消失してくる。



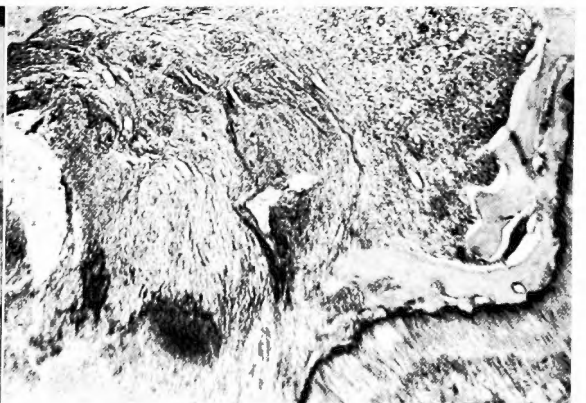
(15) H. E. 染色
関節軟骨下肉芽に依り軟骨基礎板も破壊され、軟骨は一塊として遊離しつつある。



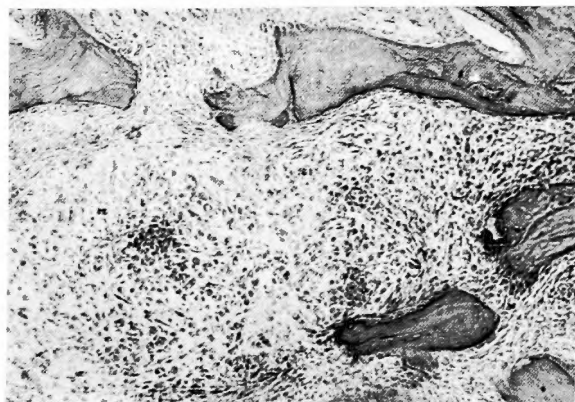
(16) H. E. 染色
関節軟骨基礎板下に巨細胞及び類上皮細胞より成る典型的結核性肉芽がみられる。



(17) PAS 反応
壊死に陥った関節軟骨部は特に強く濃染する。



(18) PAS 反応
骨端骨髓内病巣；壊死に陥り軟化融解しつつある部分は強く濃染する。



(19) マロリー染色

繁殖性病巣に接した骨梁の破壊は少いが増殖性変化を伴って来ると窩状吸収による骨破壊が出現して来る。



(20) マロリー染色

繁殖性及び増殖性変化が混交して発育する肉芽中の骨梁は著しい窩状吸収がみられる。



(21) 鍍銀染色

(20)の時期を経て鎮静期に入り非特異性肉芽のみの増殖してくる部位では窩状吸収は少くなる。



(22) 鍍銀染色

繁殖性及び増殖性変化の混交している部位では骨梁破壊がみられるが、増殖性のみの部分では逆に骨梁添加、肥厚がみられる。



(23) メタクロマジー反応

関節軟骨の異常増殖と併行して pH. 2.5 のメタクロマジー反応も広範に出現し限局病巣の周囲に軟骨基礎板からの骨梁形成が著明となる。



(24) ヴァンギーソン染色

修復期、中央の限局性繁殖病巣は新生増殖した骨、軟骨組織で完全に被包されている。

られないのみならず比較的長期間病巣内に遺残する。然し軟骨基礎板の侵されていない周囲関節軟骨は鎮静期に入ると、フ反応、メタクロマジー反応の増強を来すと同時に異常な増殖を示す事から、此等の周囲軟骨は反応性の強い再生増殖能を有していると考えられる。

5) 主病巣における Al-P-ase は滲出期、異所的石灰沈着の初期、中胚葉性細胞の増殖期に著明に増加し、骨幹端部骨皮質、軟骨基礎板に於ては骨破壊吸収の旺盛な部位及び骨軟骨の増殖肥厚を示す部位にもつとも強く出現する。従つて Al-P-ase は骨軟骨代謝時における磷酸及び磷酸エステルの平衡調節、異所的石灰沈着の初期にも何らかの關係のある事を推測し得ると同時に組織細胞の分化増殖、骨基質の形成に重要な役割りを演じていると考えられる。

稿を終るに臨み、御懇篤な御指導、御校閲を戴いた恩師近藤鋭矢教授並に本研究について数々の御教示、御助言を戴いた京大結核病理学部長松英雄助教授に衷心より謝意を表する。

主要文献

- 1) Baumgarten, G.: *Biochem. z.*, **213**, 170, 1929.
- 2) Bevelander and Johnson: *Anat. Record.*, **108**, 1, 1950.
- 3) Bourne, G. H.: *The Biochemistry and Physiology of Bone*. 1956.
- 4) Boyd and Neuman: *J. Biol. Chem.*, **193**, 243, 1951.
- 5) Dallemagne J.: *Ann. Rev. Physiol.*, **12**, 101, 1950.
- 6) Danielli, J. F.: *Nature* **168**, 464, 1951.
- 7) Dowall, Mc.: *Physiology and Biochemistry* 1948.
- 8) Fabisch, W.: *Biochem. Z.*, **254**, 157, 1932.
- 9) Fell, H. B. and Danielli, J. F.: *Brit. J. Exper. Pathol.*, **24**, 196, 1943.
- 10) Fell, H. B. and R. Robinson: *Biochem. J.*, **23**, 767, 1929.
- 11) Feigin, Wolf and Kabat: *Am. J. Pathol.*, **26**, 647, 1950.
- 12) Gutman, A. B. and Gutman E. B.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **48**, 87, 1941.
- 13) Gutman, Warrieh and Gutman: *Science*, **95**, 461, 1942.
- 14) Gomori, G.: *Microscopic Histochemistry*, Chicago 1952.
- 15) Gomeri, G.: *Am. J. Pathol.*, **19**, 2, 197, 1943.
- 16) Greep, Fischer and Morse: *Science*, **105**, 606, 1947.
- 17) idem.: *J. Am. Dent. Ass.*, **36**, 427, 1948.
- 18) Harris, H. A.: *Nature*, **130**, 996, 1932.
- 19) Horowitz: *J. Dent. Res.*, **21**, 519, 1942.
- 20) Häbler, C.: *Physikalische Chemische Probleme in der Chirurgie*, 1930.
- 21) Kay, H. D.: *J. Biol. Chem.*, **89**, 235, 1930.
- 22) Logan, M. A.: *J. Biol. Chem.*, **110**, 375, 1935.
- 23) Martland, M., F. S. Hausmann and R. Robinson: *Biochem. J.*, **20**, 847, 1926.
- 24) Marks, Hiatt and Shorr: *J. Biol. Chem.*, **204**, 175, 1953, 187.
- 25) Majno, G. and C. Roulliller: *Virchow's Arch. Pathol. Anat. n. Physiol.*, **32**, 1, 1951.
- 26) Neuman, Distefano and Mulryan: *J. Biol. Chem.*, **193**, 227, 1951.
- 27) Distefano and Neuman: *J. Biochem.*, **20**, 759, 1953.
- 28) Pritchard J. J.: *J. Anat.*, **86**, 259, 1952.
- 29) Robinson R.: *Biochem. J.*, **17**, 286, 1923.
- 30) Robinson and Rosenheim: *Biochem. J.*, **28**, 684, 1934.
- 31) Robinson, Macleod and Rosenheim: *Biochem. J.*, **24**, 684, 1930.
- 32) Roche, J et al: *Biochem. et Biophysiol. Acta.*, **5**, 275, 1950.
- 33) Rubin. P. S. and Howard, J. E.: *J. B. J. S.* **34-B**, 646, 1952.
- 34) Siffert, R. S.: *J. Exptl. Med.*, **93**, 415, 1951.
- 35) Sobel and Burger: *Soc. Exp. Biol. and Med.*, **87**, 7, 1954.
- 36) Sylven, B.: *J. B. J. S.* **29**, 973, 1947.
- 37) idem.: *J. B. J. S.* **30**, 158, 1948.
- 38) Shajowitz, F. and R. L. Cabrini: *J. B. J. S.* **36-B**, 3, 1954.
- 39) Urist and McLean: *J. B. J. S.*, **25**, 375, 1943.
- 40) Waldman: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **69**, 262, 1948.
- 41) Wells, H. G. and E. R. Long: *The Chemistry of Tuberculosis*. 1932.
- 42) Wells, H. G.: *Chemical Pathology*. 1925.
- 43) Zorzoli, A.: *Anat. Record.*, **102**, 445, 1948.
- 44) 岩喬: *日整誌* **29**, 4, 407, 1955.
- 45) 神前武和: *酵素学* 昭27.
- 46) 久保・高松: *日病誌* **33**, 219, 昭18.
- 47) 久木田光郎: *日整誌* **30**, 7, 821, 昭32.
- 48) 久保・武内: *結核* **28**, 10, 685, 昭28.
- 49) 茂田貫一: *歯学誌* **6**, 267, 昭24.
- 50) 高松・武内: *満洲医誌* **37**, 2, 363, 昭17.
- 51) 立岩邦彦: *日整誌* **31**, 2, 99, 昭32.
- 52) 武内忠男: *満洲医誌* **38**, 5, 705, 昭18.
- 53) 玉井: *整形外科* **3**, 103, 昭27.
- 54) 中川周: *熊本医誌* **27**, 222, 昭28.
- 55) 花崎豊: *慈医誌* **69**, 9, 925, 昭29.
- 56) 服部正次他: *結核* **31**, 11, 685, 昭31.
- 57) 花北他: *整形外科* **8**, 3, 153, 昭32.
- 58) 福原正: *新潟医誌* **67**, 4, 373, 昭28.
- 59) 星晴隆: *東京医誌* **60**, 2, 138, 昭27.
- 60) 松田孝雄: *熊本医誌* **27**, 194, 昭28.
- 61) 林孝夫: *日整誌* **26**, 1, 1, 昭27.
- 62) 吉崎泰夫: *日外宝函* **23**, 4, 365, 昭29.
- 63) 横井・榎木: *満洲医誌* **37**, 2, 353, 昭18.
- 64) 吉川春寿: *整形外科* **3**, 53, 1951.